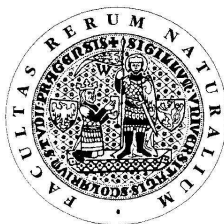


UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Analytická chemie



Martin Ston

TESTOVÁNÍ A OPTIMALIZACE PODMÍNEK TLAKOVÉHO MODULÁTORU PRO GCxGC ANALÝZY

Testing and optimization of pressure modulator conditions
for GCxGC analyses

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Radomír Čabala, Dr.

Praha 2012

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857 a rámcového programu 14/63 MŠMT a za přispění Norway Grants (Project CZ0116).

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce a ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze, je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 1. května 2012.

Poděkování

Rád bych poděkoval mému školiteli RNDr. Radomíru Čabalovi, Dr. za jeho pomoc, bez které by tato práce nemohla vzniknout a mým rodičům za jejich všestrannou podporu.

Abstrakt:

Byl sestaven pulzní (fluidní) tlakový modulátor pro komprehenzivní plynovou chromatografii. Pro analýzu vybrané směsi těkavých rozpouštědel byly nalezeny optimální podmínky pro zapojení do plynového chromatografu s plamenově ionizačním detektorem. Dále byly popsány tlakové závislosti v systému a vztahy mezi rozměry jednotlivých kapilár modulátoru a kolon a mezi délkami modulační periody a pulzu.

Pro porovnání účinnosti separace v první dimenzi byly porovnány dvě nepolární kolony (15 m × 0,25 mm DB-5MS a 10 m × 0,15 mm CP-Sil 5 CB) se stejnou stacionární fází. Jako vhodnější se ukázalo použití DB-5MS pro větší separační účinnost. V druhé dimenzi byly porovnány kolony Supelcowax 10 o délkách 1, 2 a 3 m a bylo zjištěno, že použitím 3m kolony se celková délka analýzy sice prodlouží, ale nárůst separační účinnosti v druhé dimenzi je velmi patrný. Měřením bylo zjištěno, že zvolené parametry pro porovnání separační účinnosti systému (píková kapacita a relativní produkt rozlišení) se ukázaly jako nevhodné.

Byly změřeny reálné vzorky benzínu, petroleje a motorové nafty. U vzorku benzínu bylo stanoveno množství přidávaného ethanolu jako bioložky.

Pulzní tlakový modulátor byl upraven výměnou spojovacích prvků, což přispělo ke zlepšení celkové separace.

Klíčová slova:

ropné deriváty, rozlišení píků, píková kapacita, relativní produkt rozlišení

Předmětová hesla:

komprehenzivní plynová chromatografie, optimalizace

Abstract:

Pulse (fluid) pressure modulator was constructed for comprehensive gas chromatography. Optimal conditions of its connection to the gas chromatograph with a flame ionization detector were found for the analysis of selected mixture of volatile solvents. Pressure interdependences in the system and relations between dimensions of modulator capillaries and columns have been evaluated with respect to the length of the modulation period and pulse duration.

Two non-polar columns (15 m \times 0.25 mm DB-5MS, 10 m \times 0.15 mm CP-Sil 5 CB) of the same stationary phase were tested to compare the separation efficiency in the first dimension and the DB-5MS column was selected. The Supelcowax 10 columns of the lengths 1, 2 and 3 m were compared in the second dimension. It was found that using of 3 m length column lead to the extension of analysis time, however the increase in separation efficiency in the second dimension was very evident. The experimental measurements have shown that the selected parameters for the evaluation of the separation efficiency (the peak capacity and total resolution product) were inappropriate.

Gasoline, kerosene and diesel fuel were analyzed as examples of real samples. Amount of added ethanol as a biofuel additive was determined in the gasoline sample.

Pulse pressure modulator was modified by replacement of its connectors, which fact improved the separation.

Keywords:

petroleum derivatives, peak resolution, peak capacity, total resolution product

Subject words:

comprehensive gas chromatography, optimization

Obsah:

1 Úvod	- 8 -
2 Teoretická část	- 9 -
2.1 Komprehenzivní plynová chromatografie.....	- 9 -
2.2 Modulátory	- 11 -
2.3 Pulzní tlakový modulátor	- 14 -
2.4 Využití GC×GC	- 16 -
2.5 Separační proces.....	- 17 -
2.6 Relativní produkt rozlišení	- 19 -
2.7 Píková kapacita	- 20 -
3 Experimentální část	- 22 -
3.1 Chemikálie	- 22 -
3.2 Přístrojové vybavení.....	- 22 -
3.3 Příprava směsi analytů	- 23 -
3.4 Reálné vzorky.....	- 23 -
3.5 Sestavení pulzního tlakového modulátoru	- 23 -
3.6 Zdokonalení prototypu pulzního tlakového modulátoru	- 24 -
3.7 GC×GC-FID.....	- 24 -
4 Výsledky a diskuze	- 25 -
4.1 Ověření funkce systému na pentanu.....	- 25 -
4.2 Příklad modulace píků.....	- 26 -
4.3 Závislost tlaků v systému a tlakové rozmezí modulace	- 29 -
4.4 Průtokové objemy	- 30 -
4.5 Optimální délka pulzu	- 32 -
4.6 Porovnání I. kolony	- 34 -
4.7 Porovnání II. kolony.....	- 36 -
4.8 Petrolej	- 39 -
4.9 Nafta	- 41 -
4.10 Stanovení ethanolu v benzínu	- 42 -
4.11 Vliv mobilní fáze.....	- 44 -
4.12 Délky skladovací kapiláry a transfer line	- 47 -

4.13 Porovnání vlivu spojovacích prvků na úroveň separace	- 47 -
5 Shrnutí	- 50 -
6 Závěr	- 52 -
7 Seznam zkratk a symbolů	- 53 -
8 Dodatek – slovník pojmů.....	- 54 -
9 Použitá literatura.....	- 55 -

1 Úvod

Tématem diplomové práce je konstrukce, testování a optimalizace podmínek pulzního (fluidního) tlakového modulátoru (PFM – pulsed flow modulator) pro komprehenzivní plynovou chromatografii (comprehensive gas chromatography, GC×GC) na plynovém chromatografu vybaveném plamenově ionizačním detektorem.

Pro srovnávání úrovně separační účinnosti jednotlivých uspořádání systému byly vybrány dva parametry: píkova kapacita a celkový produkt rozlišení.

Jelikož je oblast GC×GC relativně nová, drtivá většina anglických výrazů nemá české ekvivalenty. Proto je na konci této diplomové práce uveden dodatek, který pomůže čtenáři s vysvětlením nejpoužívanějších pojmů.

Cílem práce je nalezení optimálních podmínek pro dvourozměrnou komprehenzivní separaci vybrané směsi těkavých rozpouštědel a použití těchto podmínek pro měření reálných vzorků. Dále pak zdokonalení prototypu PFM a nalezení podmínek poskytujících nejvyšší hodnoty píkove kapacity a relativního produktu rozlišení.

2 Teoretická část

2.1 Komprehenzivní plynová chromatografie

V reálných velmi komplexních vzorcích, jako jsou např. ropné produkty či přírodní vonné oleje, je stanovení všech komponent pomocí klasické plynové chromatografie (jednorozměrná GC, 1D-GC) problematické a většinou nemožné. Mohou obsahovat až tisíce látek, z nichž některé nelze během jedné analýzy pro jejich podobné vlastnosti od sebe rozdělit vůbec. Proto byly vyvíjeny separační systémy s větší píkovou kapacitou a selektivitou. Jednou z možných cest řešení je použití vícerozměrných separací [1].

Do této skupiny patří dvourozměrná plynová chromatografie (2D-GC). Ta zahrnuje celou řadu metod, jako např. heart-cut techniku, která umožňuje určitou kritickou část vzorku po neúplné separaci na jedné koloně rozdělit na další koloně o jiné selektivitě.

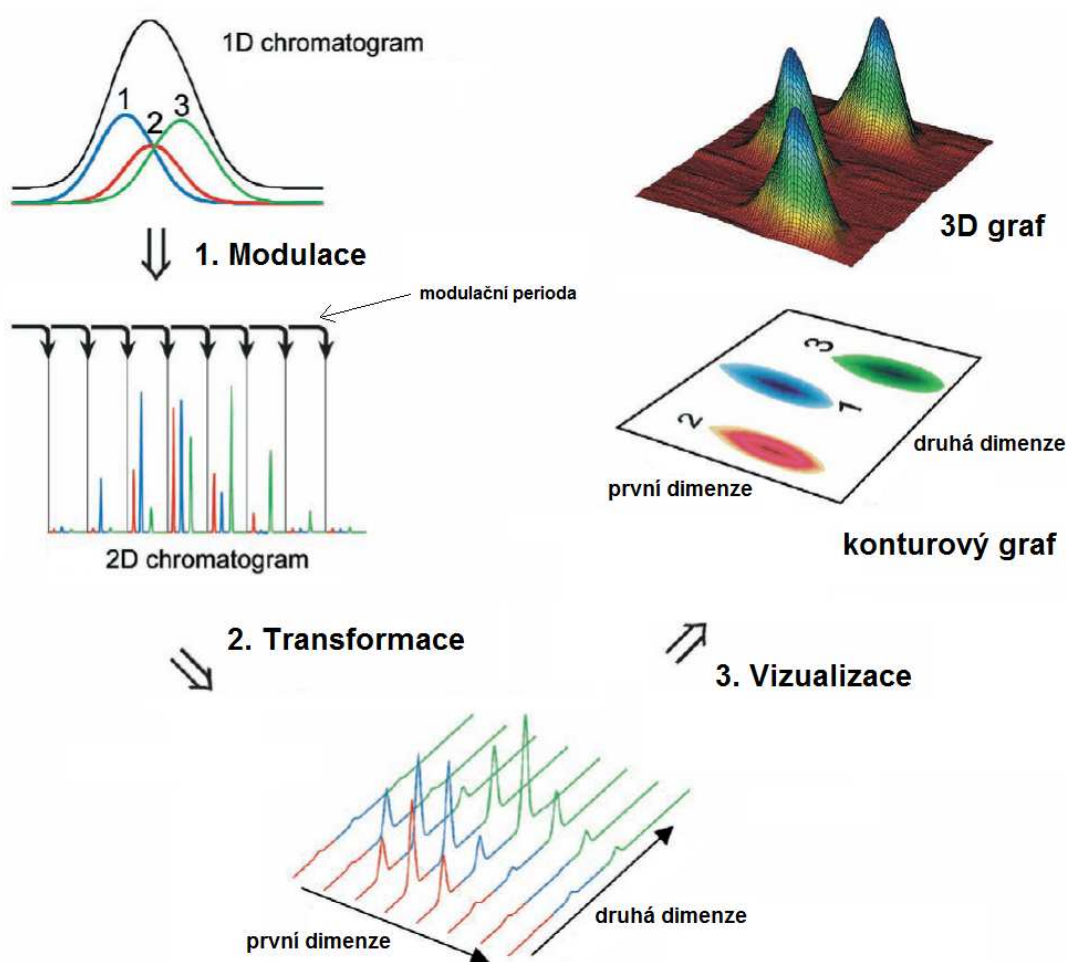
Celková účinnost těchto metod, vyjádřená píkovou kapacitou, se významně neliší od účinnosti běžné 1D-GC, protože dvourozměrné analýze je podrobena jen malá část vzorku. Většina z těchto metod rovněž trpí určitými nedostatky, jako např. zmíněná metoda heart-cut vykazuje posuny retenčních časů v závislosti na počtu a délce heart-cutů. Z těchto důvodů byla hledána i jiná vhodnější řešení [2].

Jedním z možných řešení se ukázala tzv. komprehenzivní dvoudimenzionální plynová chromatografie (GC×GC). Při použití dvou kolon v sériovém zapojení s rozdílnou polaritou a modulátorem mezi nimi hovoříme o GC×GC, kdy je na obou kolonách separován vždy celý nadávkovaný vzorek. U tohoto systému je výsledná teoretická píková kapacita dána součinem píkových kapacit každé kolony, což znamená vzrůst píkové kapacity (účinnosti) až o několik řádů. Mezi další výhody GC×GC patří zvýšení citlivosti v důsledku zvýšení výšky píků. K tomu dochází díky tomu, že klasický pík je modulován, což znamená, že v závislosti na délce modulační periody se klasický pík rozdělí na určitý počet velmi úzkých píků (60 – 100 ms). Protože součet ploch úzkých píků se musí rovnat ploše klasického píku, je jejich výška o několik řádů vyšší [3].

Vyhodnocování GC×GC separací je oproti klasické 1D-GC komplikovanější, protože probíhá v trojrozměrném prostoru, kdy identitu látky charakterizují dva retenční časy (I. a II. kolona) a množství látky je charakterizováno objemem prostorového tělesa (v ideálním případě kuželu), které je prostorovým ekvivalentem píku. Měřicí systémy

GC×GC ovšem produkuje surová data ve formátu klasické 1D-GC a pro jejich vyhodnocení musejí proto být speciálním softwarem transformována na odpovídající formát.

Na obrázku 2.1.1 je vysvětlen postup, jak se modulované úzké píky převedou do projekce konturového grafu a do 3D grafu. Nejdříve se 1D-chromatogram rozdělí po časových úsecích, které mají délku rovnající se právě době trvání modulační periody. Tyto úseky se následně otočí o úhel 90° vůči časové ose a vytvoří tak 2D chromatogram. V tom se posléze provedou interpolace a vznikne konturový graf, kde na ose x je retenční čas na první koloně (min), na ose y retenční čas na druhé koloně (s) a na ose z zůstane odezva detektoru zobrazená do vrstevnic [4].



Obrázek 2.1.1: Postup úpravy klasického chromatogramu do 3D grafu (upraveno a převzato z Dallüge, J. a kol., 2003, [4])

Pro správnou funkci GC×GC systému musí být splněno několik nezbytných podmínek. Např. dílčí analýza v druhé dimenzi musí být dokončena během modulační periody, analýza na druhé koloně nesmí znehodnotit úroveň separace látek dosažené na první koloně nebo podmínka ortogonalita systému, která znamená rozdílné hodnoty retenčních časů látky v každé dimenzi. Ortogonalita lze dosáhnout např. použitím dvou kolon rozdílné polarita (obvykle první kolona nepolární a druhá kolona středně polární nebo polární) [5-7].

2.2 Modulátory

Nejdůležitějším prvkem v GC×GC systému je právě modulátor, který umožní zachycení malé frakce vzorku eluujícího z první kolony a jeho následné rychlé nadávkování do druhé kolony, přičemž se nesmí znehodnotit úroveň separace látek dosažená na první koloně. Modulátory můžeme rozdělit podle toho, na jakém principu jsou založeny. Základní dělení je na termální a tlakové. Termální modulátory využívají pro zachycení eluentu zchlazení a opětovné ohřátí smyčky kapiláry, tlakové pak pomocí ventilu přepínání toku mobilní fáze mezi dvěma kapilárami [8].

Termální modulátory se dále dělí na heater-based modulátory a kryogenní. První modulátor v historii GC×GC vynalezený Phillipsem v roce 1991 [9] se řadí do první kategorie a jeho princip je založen na termodesorpci. Malý úsek vnější části kapiláry modulátoru byl nahrazen odporovou vrstvou (zlatá fólie tloušťky 40 μm), do které byly pouštěny pulzy elektrického proudu s vhodnou délkou a frekvencí. Jakmile se analyt dostane do smyčky modulátoru umístěné mimo termostatovanou část chromatografu, nastane jeho sorpce a zachycení v krátké zóně díky relativně nízké teplotě kapiláry. Následně je do odporové fólie pouštěn proudový pulz, čímž dochází k náhlému zvýšení teploty a k desorpci analytu [10].

U kryogenních modulátorů je zapotřebí k ochlazení části kapiláry chladící médium, nejčastěji kapalný dusík nebo oxid uhličitý. V roce 1997 sestrojil Marriott první kryogenní modulátor chlazený pomocí kapalného oxidu uhličitého [11]. V dnešní době je nejčastěji používán tzv. dvoutryskový (two-jets) systém, kde je na krátký úsek

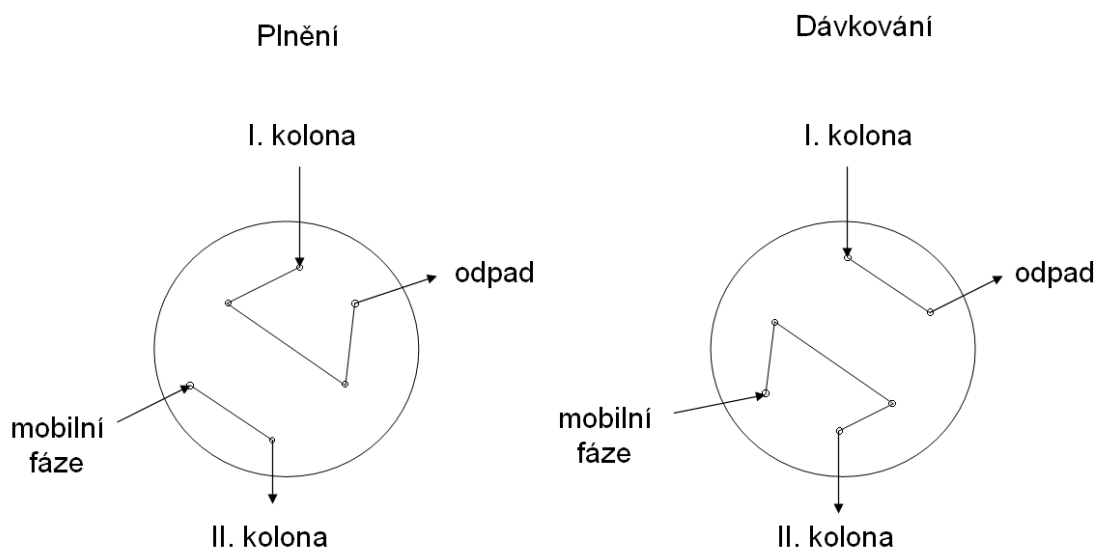
smyčky kapiláry spojující obě separační kolony trvale přiváděn jednou tryskou zchlazený plynný dusík a střídavě druhou tryskou horký dusík. Zchlazení části kapiláry tryskou se zchlazeným dusíkem zadrží (vymrazí) eluent v tomto bodě, aby byl následně rychle nadávkován do druhé kolony po ohřátí pomocí trysky s horkým dusíkem [12-14].

V současné době se nejvíce používá kryogenních modulátorů pro jejich vysokou účinnost modulace (dávkování). Mezi jejich hlavní přednosti patří schopnost produkce velmi úzkých píků v chromatogramu (až 60 ms šířka píku v polovině jeho výšky), které jsou nezbytné pro dosažení vysoké celkové účinnosti GC×GC systému [15, 16].

Pro běžný provoz v laboratoři jsou však tyto modulátory finančně náročné z důvodu relativně velké investice do kryogenních nádob a velké spotřeby chladicího média (pro představu je to přibližně 240 l kapalného dusíku za 2 týdny).

Vedle dominantního postavení kryogenních modulátorů současně probíhá vývoj i tlakových modulátorů. Ty lze rozdělit podle základního principu činnosti na tři druhy: modulátor s diferenciálním tokem (differential flow modulator, DFM), modulátor s přepínaným tokem (flow switch modulator, FSM) a tlakový pulzní (fluidní) modulátor (pulsed flow modulator, PFM) [17, 18].

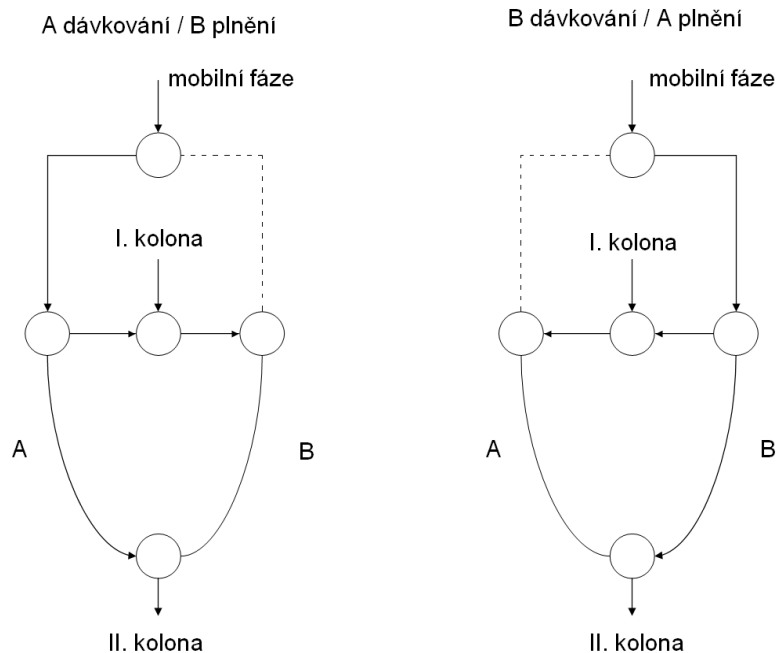
Princip funkce DFM je založen na činnosti šesticestného ventilu, který je zapojený mezi první a druhou kolonu. Na obrázku 2.2.1 je znázorněn princip jeho funkce. Do ventilu je připojený pomocný přívod nosného plynu. Ventil umožňuje rychlé přepínání mezi dvěma smyčkami kapilár, kdy jedna se plní frakcí analytu z první kolony a současně obsah druhé smyčky se dávkuje do kolony druhé. Nedávkuje se ale vše z první kolony do kolony druhé, ale pouze 80 %. Je to způsobeno tím, že i když je přepínání mezi smyčkami velmi rychlé, v době přepínání se eluující frakce analytu z první kolony odvádí do odpadu [19, 20].



Obrázek 2.2.1: Princip differential flow modulátoru (upraveno podle Seeley, J. V. a kol., 2000, [20])

FSM jako vylepšený nástupce DMF pracuje tak, že trojcestný ventil rychle přepíná pomocný přívod nosného plynu mezi dvě krátké kapiláry (A a B na obr. 2.2.2). Ty jsou vyvedeny z děliče toku umístěného na výstupu z první kolony a obě opět ústí do druhé kolony. Princip modulátoru spočívá v rychlém přepínání trojcestného ventilu tak, že eluent z první kolony proudí buď do jedné nebo do druhé krátké kapiláry. V okamžiku, kdy se jedna krátká kapilára plní eluující frakcí analytu z první kolony, v druhé se předchozí frakce dávkuje do druhé kolony. Zde se dávkuje všechny eluent z první kolony do kolony druhé. Na obrázku 2.2.2 je znázorněn princip jeho funkce [21, 22].

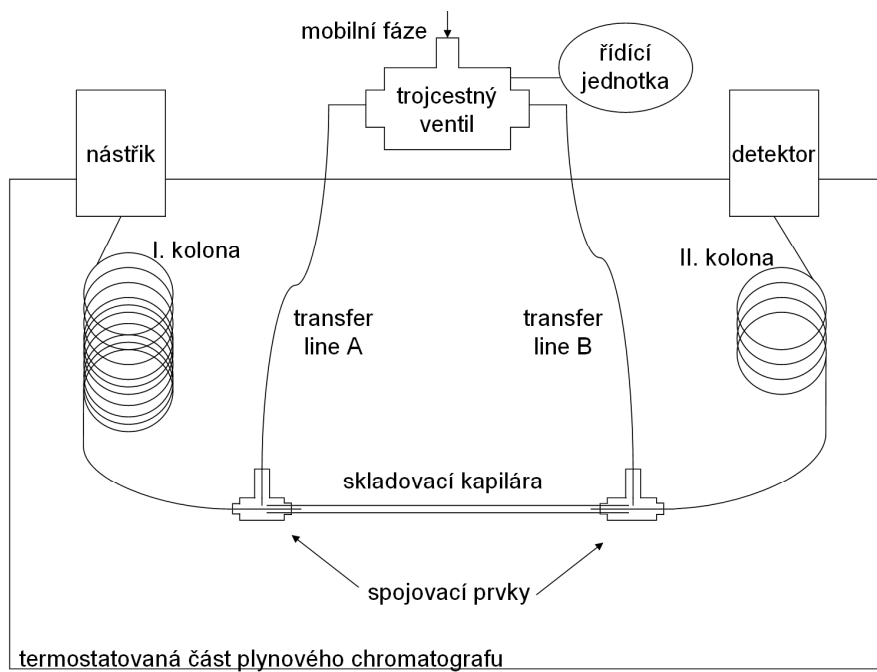
Předchůdce třetího typu modulátoru z roku 2004 opět převáděl jen část frakce eluentu z první kolony do druhé [23, 24].



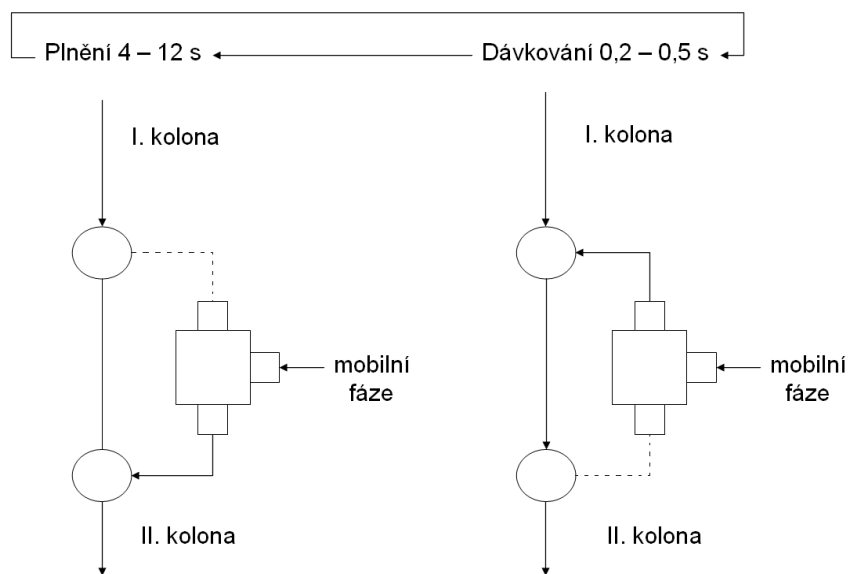
Obrázek 2.2.2: Princip flow switch modulátoru (upraveno podle Seeley, J. V. a kol., 2007, [22])

2.3 Pulzní tlakový modulátor

Na obrázku 2.3.1 je modulátor schematicky znázorněn. Základním prvkem je zde rychlý trojcestný ventil, na jehož vstup je přiváděna mobilní fáze. Přepínání ventilu je časováno řídicí jednotkou generátoru tak, že na velmi krátký okamžik (doba pulzu, řádově stovky milisekund) prochází plyn kapilárou označenou jako transfer line A a ve zbytku modulační periody (celkový čas od počátku tlakového pulzu do začátku následujícího pulzu) prochází plyn kapilárou označenou jako transfer line B (řádově jednotky sekund). Tento proces se stále periodicky opakuje v každé modulační periodě po celou dobu analýzy. Skladovací kapilára zde slouží jako skladovací prostor pro eluující frakci analytu z první kolony, která je následně nadávkována zvýšeným proudem plynu vyvolaným tlakovým pulzem z transfer line A do druhé kolony. Transfer line B je určena pro zásobení druhé kolony mobilní fází, protože kolona v druhé dimenzi zde má větší průměr než kolona v první a vyžaduje tak vyšší průtok nosného plynu. Na obrázku 2.3.2 je znázorněn princip jeho funkce [25, 26].



Obrázek 2.3.1: Pulzní tlakový modulátor (upraveno podle Poliak, M. a kol., 2008, [25])



Obrázek 2.3.2: Princip pulzního tlakového modulátoru (upraveno podle Semard, G. A kol., 2011, [16])

Předností tohoto modulátoru je vysoká účinnost dávkování (vzorkování) bez ztráty analytu, relativně jednoduché konstrukční řešení a nízké provozní a pořizovací náklady. Mezi nevýhody patří produkce širších píků ve srovnání s kryogenním modulátorem (šířka okolo 120 ms v polovině výšky píku) a větší mrtvé objemy spojovacích prvků modulátoru mezi kolonami způsobující rozmývání píků a tudíž jejich nedostatečné rozdělení až na základní linii chromatogramu. Dalšími nevýhodou je vyšší průtokový objem plynu na výstupu z druhé kolony omezující jeho použití v kombinaci s hmotnostním detektorem.

Pro správnou funkci modulátoru je nutné dodržet několik zásad nastavení tlaku a objemového průtoku v kapilárách. V transfer line A je teoreticky nutný vyšší průtokový objem nosného plynu než u transfer line B, a protože v obou kapilárách proudí nosný plyn pod stejným tlakem, je nutné, aby se kapiláry lišily ve svých rozměrech. Nastavení průtokového objemu u transfer line A se odvíjí od rozměru skladovací kapiláry. Čím větší bude rozměr skladovací kapiláry, tím větší musí být průtokový objem u transfer line A a tím delší musí být i doba pulzu. A naopak, čím menší rozměr má druhá kolona, tím menší musí být průtokový objem v transfer line B, aby byla zachována její optimální lineární průtoková rychlost. Dále je důležité, aby nastavený tlak na modulátoru nebyl moc rozdílný od tlaku nastaveném na plynovém chromatografu. Pokud bude tlak na modulátoru nastaven na hodnotu poměrně vyšší, zastaví se analýza v první koloně. V opačném případě přestane fungovat modulace a analýza bude probíhat jako 1D-GC.

2.4 Využití GC×GC

V literatuře můžeme najít široké uplatnění použití GC×GC. Nejpoužívanějším typem pro komprehenzivní plynovou chromatografii je kryogenní modulátor s TOF (time-of-flight) hmotnostní detekcí (GC×GC-TOF-MS). Toto zapojení vykazuje vysokou robustnost, reprodukovatelnost i opakovatelnost.

Mezi prvními komplexními reálnými vzorky, u kterých byly kvantitativně stanoveny jejich většinové složky, byly ropné deriváty [27]. Nejčastěji se jedná o stanovení aromatických látek v benzínu [28], leteckém petroleji [29] a naftě [30]. Analýzou

ropných derivátů, jako jsou benzín, petrolej, letecký petrolej, motorová nafta či motorové oleje, se dá určit nejen zastoupení látek, ale také jejich množství [31-38]. Toto jsou důležitá kritéria pro porovnání paliv či olejů mezi sebou a určení jejich kvality.

Nejčastějším způsobem porovnávání pohonných hmot je jejich porovnání na přítomnost sirných produktů pocházejících z ropy. Ty mají totiž zásadní vliv na kvalitu daného paliva, protože při usazování těchto látek v motorech dochází ke snižování jejich výkonu. Při jejich spalování navíc vznikají zplodiny poškozující katalyzátory výfukových soustav [39, 40].

Dále se můžeme setkat s využitím GC×GC k analýze látek v potravinách [41-43], především analýzy přírodních olejů a tuků [44, 45], analýze pesticidů [46], vonných olejů [47-49] nebo např. alergenů v parfémeh [50].

2.5 Separační proces

Plynová chromatografie je analytická metoda, která umožňuje identifikaci a stanovení nejen plynů, ale i všech látek, které lze definovaným způsobem převést na páry. Je definována jako fyzikálně-chemická metoda separace látek ze směsi na základě distribuce mezi dvě heterogenní fáze (sorpčně aktivní látkou a nosným plynem). Jde o jednoduchou, citlivou metodu s vysokou separační účinností a rozsáhlými aplikačními možnostmi.

Metodou plynové chromatografie lze látky kvalitativně charakterizovat těmito retenčními charakteristikami:

- redukovaný retenční čas (odpovídá průměrné době, kterou stráví analyt ve stacionární fázi):

$$t_R' = t_R - t_M \quad (1)$$

kde t_R je retenční čas jako celková doba, kterou analyt stráví v koloně a t_M mrtvý retenční čas, který odpovídá době, jakou analyt stráví v mobilní fázi.

- retenční faktor k (poměr času, který stráví molekuly analytu ve stacionární fázi a času, který stráví v mobilní fázi):

$$k = \frac{t_R}{t_M} \quad (2)$$

Používá se pro obecné vyjádření retence a nezávisí na rozměrech kolony [51].

Pro teoretický popis separačního procesu na základě experimentálních dat byla vypracována teorie pater, odvozená z principů popisu účinnosti destilačních kolon. Slouží k výpočtu a popisu účinnosti separačního systému, která je určena délkou separačního systému – kolony L , jejím průměrem, druhem stacionární fáze a dalšími faktory. Je vyjádřena buď jako výškový ekvivalent teoretického patra H nebo jako počet teoretických pater n , resp. počet efektivních teoretických pater n_{eff} :

$$n = 5,545 \frac{t_R}{w_{1/2}} \quad (3)$$

$$n_{eff} = 5,545 \frac{t_R}{w_{1/2}} \quad (4)$$

kde $w_{1/2}$ je šířka píku v polovině výšky.

Známe-li počet pater a délku kolony, lze vypočítat hodnotu výškového ekvivalentu teoretického patra H ze vztahu [51]:

$$H = \frac{L}{n} \quad (5)$$

kde L je délka kolony a n počet teoretických pater.

2.6 Relativní produkt rozlišení

Pro srovnávání úrovně separační účinnosti jednotlivých uspořádání systému byly vybrány dva parametry: píkova kapacita a relativní produkt rozlišení. Kritéria separace se dají rozdělit do dvou skupin: ty, které charakterizují separaci jedné dvojice látek (např. rozlišení R), a ty, které charakterizují jedinou hodnotou úroveň separace všech složek vzorku (např. relativní produkt rozlišení r) [52, 53].

Rozlišení dvou píků:

$$R_{j,k} = 2 \cdot \frac{t_{R_k} - t_{R_j}}{w_j + w_k} \quad (6)$$

kde t_R jsou retenční časy [min] a w šířky píků při základně [min], případně

$$R_{j,k} = 1,18 \cdot \frac{t_{R_k} - t_{R_j}}{w'_j + w'_k} \quad (7)$$

kde w' jsou šířky píků v polovině výšky [min]. Minimální hodnota rozlišení nutná pro kvantitativní analýzu je 1,5 [54].

V GC×GC se počítá nejen rozlišení na první a druhé koloně, ale také celkové rozlišení na ploše konturového diagramu [55, 56]. U konturového diagramu představují bloby trojrozměrnou obdobu dvourozměrných píků u 1D-GC.

Rozlišení dvou blobů v prostoru se počítá jako:

$${}^{2D}R_{j,k} = \frac{\sqrt{\left({}^1t_{R_k} - {}^1t_{R_j}\right)^2 + \left({}^2t_{R_k} - {}^2t_{R_j}\right)^2}}{\sqrt{\delta_1 + \delta_2}} \quad (8)$$

kde 1t_R a 2t_R jsou retenční časy maxim blobů [min] v 1. a 2. dimenzi a δ_1 a δ_2 vážené rotační odchylky blobů [min] v 1. a 2. dimenzi.

Vážená rotační odchylka se počítá jako:

$$\delta = \sum_{x,y \in B} \left(x - \frac{m_B}{V_B} \right)^2 p(x, y) / V_B \quad (9)$$

kde x je vzdálenost těžiště blobu od jeho okraje [min], m_B je poloha těžiště blobu promítnutá do dané osy [min], V_B je objem blobu a $p(x, y)$ hodnota odezvy detektoru v ose x a y .

Relativní produkt rozlišení r lze vypočítat následovně:

$$r = \prod_{i=1}^{n-1} {}^{2D}R_{j,k} / \left[\sum_{i=1}^{n-1} {}^{2D}R_{j,k} / (n-1) \right]^{(n-1)} \quad (10)$$

kde ${}^{2D}R_{j,k}$ je rozlišení pro jednotlivé dvojice látek se sousedními bloby a n celkový počet blobů v konturovém diagramu. Relativní produkt rozlišení může nabývat hodnot od nuly, pro kompletně překrývající se dva bloby, až po maximální hodnotu, kdy jsou všechny hodnoty rozlišení stejné [57-59].

2.7 Píková kapacita

Píková kapacita je definována jako největší počet píků, které dokáže chromatografický systém od sebe rozdělit při zachování zadaného minimálního rozlišení [60]:

$$n_1 = 1 + \frac{\sqrt{n}}{4} \ln \frac{t_n}{t_M} \quad (11)$$

kde n je počet teoretických pater separační kolony, t_n retenční čas posledního eluujícího píku a t_M mrtvý retenční čas.

Píková kapacita u GC×GC systému by se teoreticky měla rovnat součinu píkových kapacit obou kolon. Ve skutečnosti tomu tak není, protože se vždy dosahuje hodnoty

nižší. To je způsobeno např. tím, že transformované píky v první dimenzi jsou širší než v případě 1D-GC. U GC×GC systému jsou v první dimenzi širší v důsledku jejich následné separace v druhé dimenzi a menší hodnotě průtokové rychlosti nosného plynu. Ta je kompromisem mezi rozdílnými optimálními lineárními průtokovými rychlostmi obou kolon lišících se svými poloměry [61]. Píková kapacita systému GC×GC je tedy poté rovna [62, 63]:

$$n_{GC \times GC} = n_1 \cdot G_n = n_1 \cdot \frac{0,13 \cdot n^{1/3}}{R_{s, \min, 2}} \quad (12)$$

kde n_1 je píková kapacita první kolony, G_n přírůstek píkové kapacity druhé kolony, n počet teoretických pater první kolony a $R_{s, \min, 2}$ je minimální rozlišení píků na druhé koloně.

3 Experimentální část

3.1 Chemikálie

Použitými chemikáliemi byl pentan (99%, Aldrich, Steinheim, Německo), hexan, heptan (oba > 99,9%, Steinheim, Německo), ethylacetát, diethylether (oba p.a. Fluka, Steinheim, Německo), methanol, ethanol (oba > 99,9%, Penta, Chrudim, Česká republika), 2-propanol, isobutanol, dichlormethan, trichlormethan (vše p.a. od Penta, Chrudim, Česká republika), aceton (p.a., Lachner, Neratovice, Česká republika), a toluen (p.a., Lachema, Neratovice, Česká republika).

3.2 Přístrojové vybavení

Všechny analýzy byly provedeny na plynovém chromatografu GCMS-2010 s plamenově ionizačním detektorem (FID) (Shimadzu, Analytical and Measuring Instruments Division, Kyoto, Japonsko). Nosným plynem byl nejprve dusík (99,999% Linde Technoplyn, Česká republika) a později vodík (99,9% Linde Technoplyn, Česká republika). Měření byla uskutečněna na různých typech kolon: nepolární kolona DB-5MS (J&V, USA) délky 15 m, o vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,25 μm ; středně polární kolona SP – 2331 (Supelco, USA) délky 3 m, o vnitřním průměru 0,32 mm a tloušťce filmu 0,25 μm ; silně polární kolona Supelcowax 10 (Supelco, USA) délek 1, 2 a 3 m, o vnitřním průměru 0,25 mm a tloušťce filmu 0,25 μm a nepolární kolona CP – Sil 5CB (Chrompack, USA) délky 10 m, o vnitřním průměru 0,15 mm a tloušťce filmu 0,12 μm . Použité kapiláry (Supelco, USA) byly nepokryté a byly těchto rozměrů: transfer line A: 40 cm \times 0,32 mm, transfer line B: 40 cm \times 0,25 mm, 50 cm \times 32 mm, 150 cm \times 0,32 mm a 100 cm \times 0,32 mm, skladovací kapilára: 35 cm \times 0,53 mm, 70 cm \times 0,32 mm, 35 cm \times 0,32 mm a 35 cm \times 0,25 mm. Na sestavení modulátoru byly použity nejdříve T-brass connectors 1/16 in. (Swagelok, USA) a později SilFlow™ (SGE Analytical Science, USA).

Sběr dat a zpracování výsledků bylo provedeno v LabSolution (GC solution 2.53, Shimadzu) a GC Image 2.0 (Zoex, Houston, USA).

Pro míchání směsi byla použita třepačka (Vortexgenie 2, Scientific Industrie, Hampshire, Velká Británie).

K pipetování vzorků sloužily automatické pipety 1 – 10 µl (Biohit, Helsinky, Finsko), 50 – 250 µl a 1000 µl (Eppendorf, Hamburg, Německo).

K dávkování do plynového chromatografu byl použit autosampler AOC-20i (Shimadzu, Analytical and Measuring Instruments Division, Kyoto, Japonsko) se stříkačkou o objemu 10 µl (Hamilton, Reno, USA).

3.3 Příprava směsi analytů

Byla připravena směs těchto 11 látek: pentan, hexan, heptan, methanol, ethanol, 2-propanol, ethylacetát, aceton, dichlormethan, trichlormethan a toluen. Pomocí automatické pipety bylo odměřeno přesně 1,000 ml každé látky. Směs byla následně promíchána na třepačce.

3.4 Reálné vzorky

Byly měřeny tyto vzorky: benzín Natural 95 (Shell, benzínová stanice Šumperk, listopad 2011), benzín BASF 95 bez ethanolu (Česká Rafinérská, a.s., Kralupy nad Vltavou), petrolej (Severochema, Liberec, 1990) a motorová nafta (Shell, benzínová stanice Šumperk, listopad 2011).

3.5 Sestavení pulzního tlakového modulátoru

Nejdříve byla sestavena řídící jednotka a pomocí USB kabelu propojena s PC. Poté byla připojena k vedení nosného plynu. Plyn byl přes manuální regulátor tlaku a manometr dále veden do trojcestného ventilu umístěného v horní části chromatografu. Ventil byl elektricky propojen s generátorem pulzů v řídící jednotce pro nastavování dob jeho přepínání. Horní stěnou plynového chromatografu byly protaženy úzké

ocelové trubičky z jehel lékařských stříkaček tak, aby se skrz ně mohly vést transfer line kapiláry ze spojovacích prvků kolon do trojcestného ventilu. Kapiláry byly zapojeny pomocí redukcí do polyethylenových hadiček a ty byly připojeny k ventilu.

První spojovací prvek T-brass connectors 1/16 in. spojoval I. kolonu, skladovací kapiláru a transfer line A. Druhý prvek spojoval II. kolonu, skladovací kapiláru a transfer line B. V obou případech byly vždy konce kapilár transfer line a konce kolony vsunuty 1 cm do skladovací kapiláry.

3.6 Zdokonalení prototypu pulzního tlakového modulátoru

Později byly spojovací prvky T-brass connectors 1/16 in. vyměněny za SilFlow™. Dále byly transfer line A i B kapiláry vedeny přímo do trojcestného ventilu bez redukce a bez polyethylenových hadiček.

3.7 GC×GC-FID

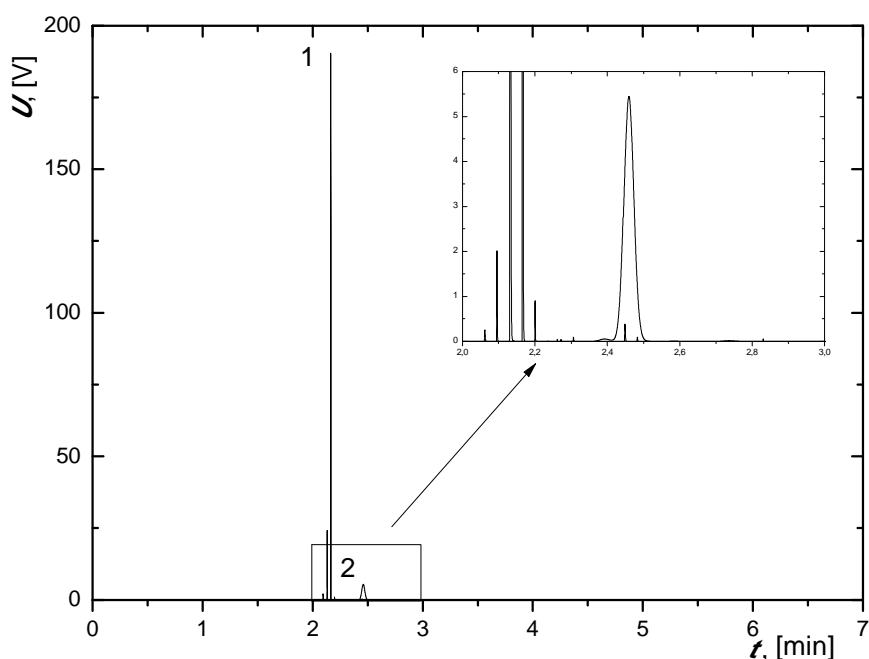
Všechna měření byla provedena na plynovém chromatografu GC-2010 s plamenově ionizačním detektorem (FID). Měření s dusíkem jako mobilní fází byla provedena za těchto podmínek: teplota detektoru 300 °C, teplota injektoru 280 °C, vypnutý gas saver, nastavení konstantního vstupního tlaku do kolony, split poměr nastaven na 1:100. U plamenově ionizačního detektoru byla průtoková rychlost vzduchu 400 ml/min, vodíku 40 ml/min a make-up dusíku 20 ml/min.

Měření s vodíkem jako mobilní fází byla provedena za stejných podmínek jako při měření s dusíkem, ale u plamenově ionizačního detektoru byla průtoková rychlost vodíku nastavena na 20 ml/min a make-up dusíku 10 ml/min.

4 Výsledky a diskuze

4.1 Ověření funkce systému na pentanu

Po sestavení GC×GC systému byl změřen pentan pro ověření správné funkce modulace. Pentan byl vybrán proto, že jeho retenční čas je jen o pár sekund větší než mrtvý čas kolon a pro jeho nepolární charakter. Na obrázku 4.1.1 je vidět zvýšení signálu při měření pentanu na GC×GC (1) ve srovnání s 1D-GC (2).

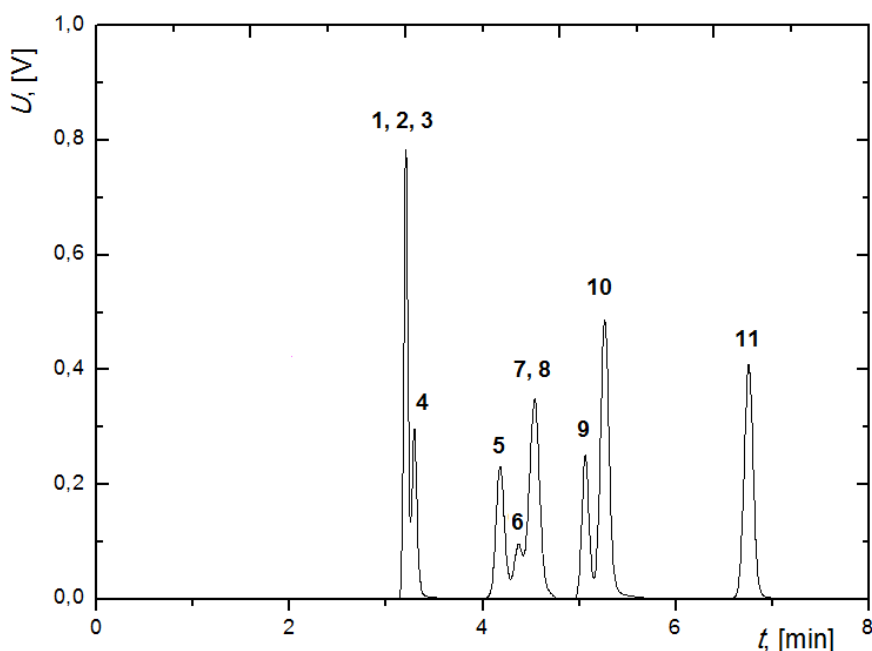


Obrázek 4.1.1: Porovnání citlivosti měření na pentanu: GC×GC (1) a 1D-GC (2).

Zatímco u 1D-GC se jedná o klasický Gaussovský pík, při modulaci se tento pík rozdělí na několik velmi úzkých píků v závislosti na nastavené době modulační periody. Tyto píky mají také Gaussovský tvar, ale protože jsou úzké a součet jejich ploch se musí rovnat ploše nemodulovaného píku (zákon zachování hmoty), jsou jejich výšky i o dva řády vyšší. Pro srovnání: u 1D-GC je šířka píku v polovině výšky pro pentan $w_{1/2} = 2$ s, u GC×GC je to $w_{1/2} = 100$ ms. Zde se výsledná citlivost zvýšila přibližně 40×.

4.2 Příklad modulace píků

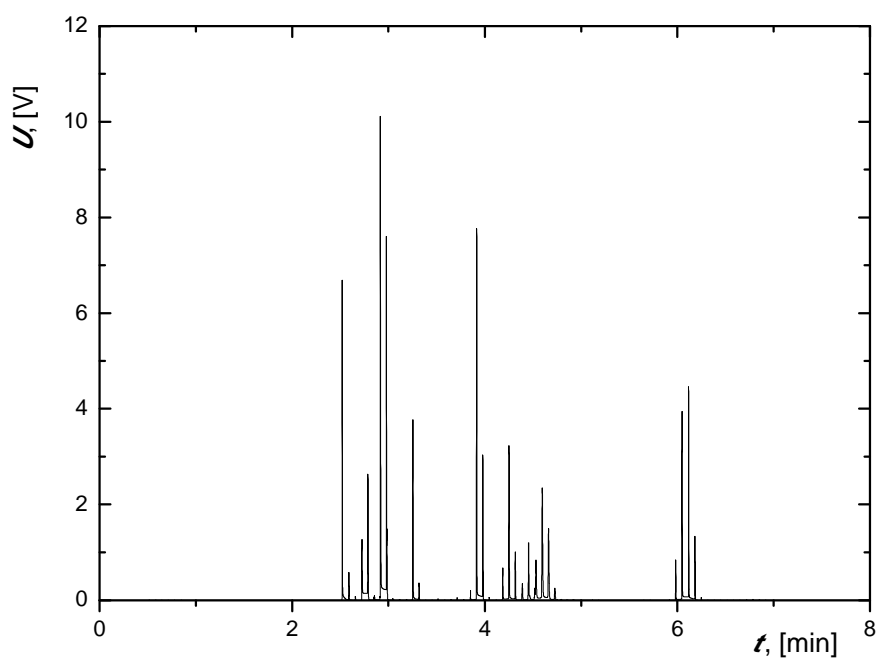
Pro demonstraci převodu modulovaných píků v 1D-chromatogramu na konturový graf byla vybrána a změřena směs 11 nízkovroucích v laboratoři běžně dostupných rozpouštědel: pentan, hexan, heptan, methanol, ethanol, 2-propanol, dichlormethan, trichlormethan, ethylacetát, aceton a toluen. Tyto látky mají teploty varu v rozmezí 36 – 110 °C a jsou rozdílné polarity. Směs byla nejprve změřena (1. kolona DB-5MS 15 m × 0,25 mm a 2. kolona Supelcowax 10 3 m × 0,25 mm) bez činnosti modulátoru, tzn. jako v klasické 1D-GC (obrázek 4.2.1).



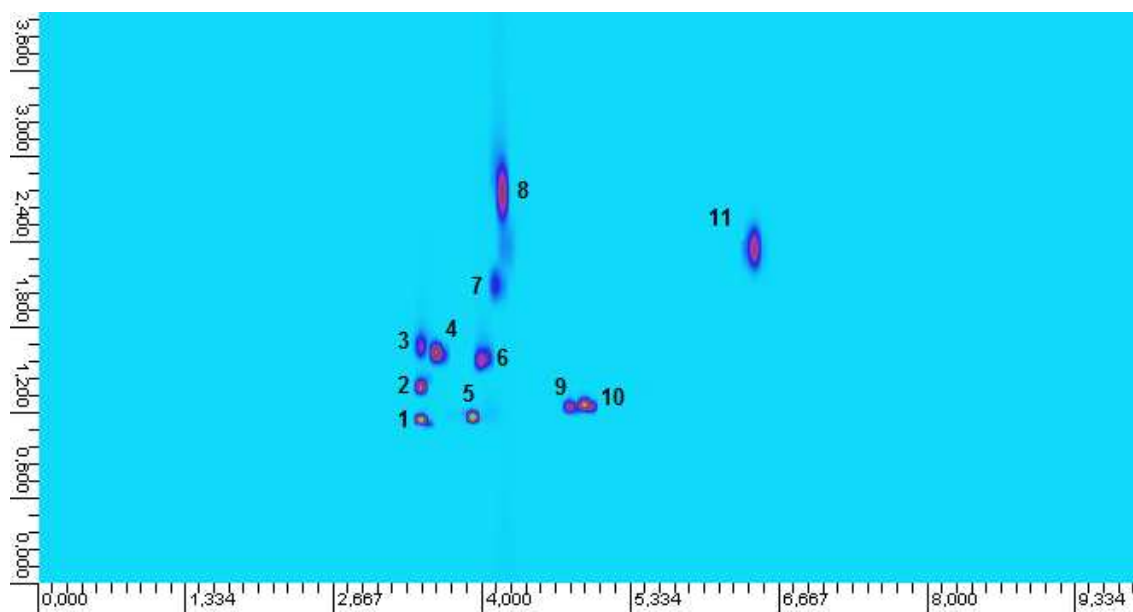
Obrázek 4.2.1: Klasický 1D-GC chromatogram směsi 11 rozpouštědel. 1: pentan, 2: aceton, 3: methanol, 4: ethanol, 5: hexan, 6: dichlormethan, 7: trichlormethan, 8: ethylacetát, 9: heptan, 10: toluen, 11: 2-propanol.

Z chromatogramu je možné identifikovat pouze 8 látek, zbytek píků se překrývá s jinými (na obrázku 4.2.1 píky 1-3 a 7, 8). Pro účely kvantifikace některých látek ve směsi je tedy tato metoda naprosto nevhodná.

Na obrázku 4.2.2 je 1D-chromatogram při použití stejných kolon, ale při použití modulátoru (tzn. GC×GC). Z chromatogramu není na první pohled příliš patrné, jestli se rozlišení zlepšilo. Pro lepší ilustraci byl proto tento chromatogram převeden pomocí programu GC Image na konturový graf zobrazený na obrázku 4.2.3.



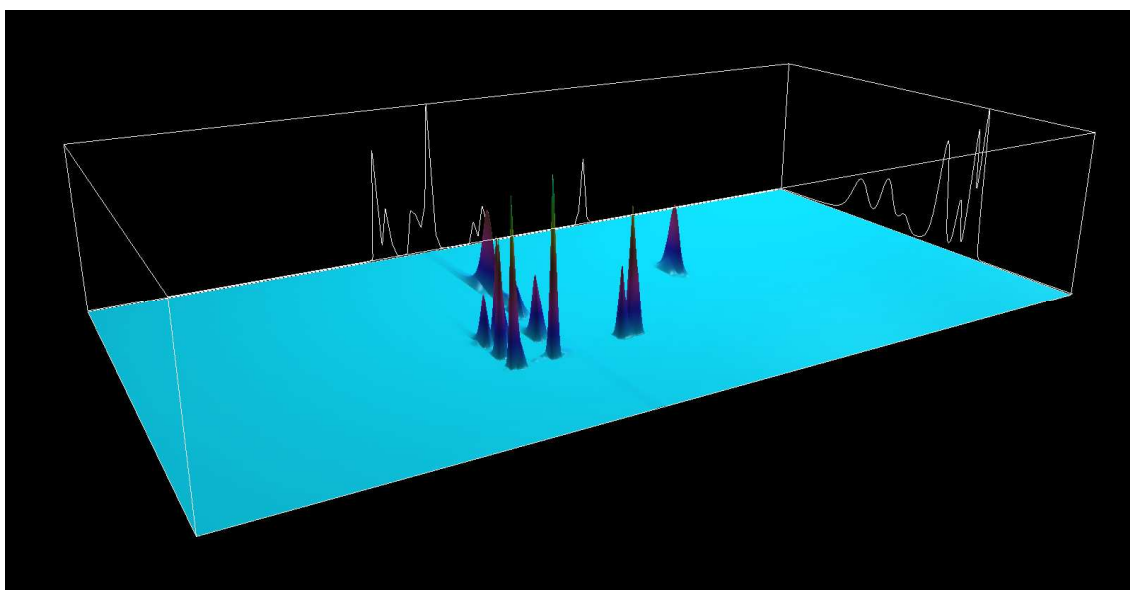
Obrázek 4.2.2: 1D-GC×GC chromatogram směsi 11 rozpouštědel.



Obrázek 4.2.3: Konturový GC×GC chromatogram směsi 11 rozpouštědel. 1: pentan, 2: aceton, 3: methanol, 4: ethanol, 5: hexan, 6: dichlormethan, 7: trichlormethan, 8: ethylacetát, 9: heptan, 10: toluen, 11: 2-propanol. Osa x představuje retenční čas 1. kolony [min], osa y 2. kolony [s].

V konturovém grafu vyexportovanému z programu GC Image (obrázek 4.2.3) je na ose x retenční čas na první koloně v minutách, na ose y retenční čas na druhé koloně v sekundách. Barva určuje intenzitu signálu tak, že světle modrá je signál roven nule a přes tmavě modrou, fialovou až ke žluté, kdy je signál maximální. Je zde patrné, že v prvním píku 1D-GC chromatogramu (obrázek 4.2.1) byly obsaženy celkem tři látky.

Pro názornost je možné tento graf převést do 3D modelu (obrázek 4.2.4), kdy retenční časy na kolonách zůstaly na osách x a y . Na ose z je intenzita signálu. Z blobů konturového grafu se tedy stanou kužely. Na stěnách pomyslného kváдру u 3D grafu je patrná projekce kuželů do příslušné separační dimenze a tím je znázorněna separace na jednotlivých kolonách odděleně.



Obrázek 4.2.4: 3D GC×GC chromatogram směsi 11 rozpouštědel.

Analýzou této směsi byla ověřena správná funkce separace na obou kolonách, podle bodu varu látky na první koloně a podle polaritý na druhé koloně. Čím více byla látka těkavější, tím méně byla na první koloně zadržována a tím kratší byl její retenční čas na první koloně. Čím více byla látka polární, tím více byla zadržována na druhé koloně a tím delší byl její retenční čas na druhé koloně.

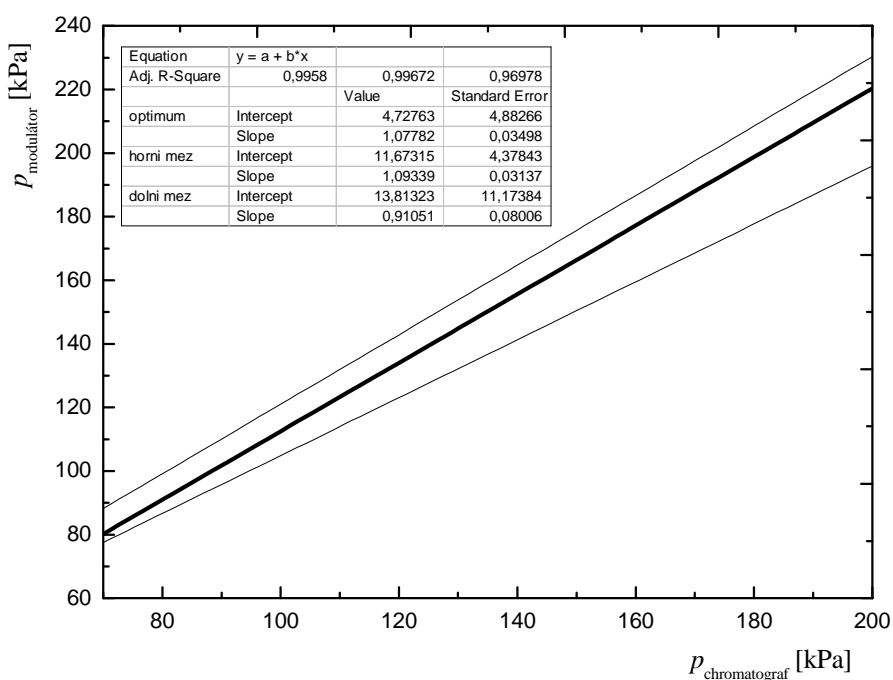
Směs byla měřena za těchto podmínek při izotermální analýze při 60 °C: výstupní tlak na modulátoru: 220 kPa, tlak na plynovém chromatografu: 200 kPa, délka pulzu: 0,5 s, modulační perioda: 4 s. Za těchto podmínek je relativní produkt rozlišení $r = 1,08 \cdot 10^6$ a píková kapacita $n_{GC \times GC} = 168$.

4.3 Závislost tlaků v systému a tlakové rozmezí modulace

V průběhu práce bylo zjištěno, že tlak mobilní fáze na výstupu z modulátoru a tlak na plynovém chromatografu musí být nastaven v určitém poměru tak, aby byly píky modulované. Na této sestavě byla hledána závislost:

- 1. kolona DB-5MS: 15 m × 0,25 mm,
- 2. kolona Supelcowax 10: 3 m × 0,25 mm
- transfer line A: 40 cm × 0,32 mm
- transfer line B: 1 m × 0,32 mm
- skladovací kapilára: 70 cm × 0,32 mm
- mobilní fáze: dusík
- teplota kolony: 60 °C izotermálně

Byly nalezeny tlakové podmínky, při kterých je modulátor schopný modulovat píky. Na obrázku 4.3.1 je graf závislosti nastavení tlaku mobilní fáze na výstupu z modulátoru na tlaku nastaveném na plynovém chromatografu (první koloně).



Obrázek 4.3.1: Rozsah funkce modulace. Slabší přímky vymezují nastavení tlaků na modulátoru a plynovém chromatografu, při kterém je modulátor schopný modulovat pík. Silnější přímka udává ideální nastavení tlaků, při kterém je modulace optimální.

Slabší přímky vymezují oblast tlaků, při kterých je modulátor schopný modulovat pík. Silnější přímka udává ideální nastavení tlaků, při kterém je modulace optimální.

Při nastavení vyššího tlaku na výstupu modulátoru než je hraniční tlak dojde k zastavení toku mobilní fáze v první koloně. Čím více se bude poté tlak na výstupu modulátoru snižovat a přibližovat tak optimu, tím více se bude zkracovat mrtvý čas na první koloně. Při dalším snižování tlaku bude docházet k rozšiřování píků a po překročení dolní hranice funkce modulátoru přestanou být píky modulované úplně.

V oblasti nastavení nižších tlaků je menší jejich rozsah, při kterých je pík modulován, než v oblasti nastavení vyšších tlaků. To je způsobeno tím, že při vyšších nastavených tlacích probíhá modulace píků i když jsou už velmi široké (šířka 400 ms v polovině výšky píku). Tato větší šířka píků má však podstatný vliv na citlivost detekce.

4.4 Průtokové objemy

Pro každou sestavu kolon a kapilár byly proměřeny průtokové objemy mobilní fáze, které prochází detektorem. Znalost průtokových objemů vedoucích na detektor je důležitá pro jeho volbu. Např. hmotnostní detektory vyžadují jen velmi malé průtoky mobilní fáze, jinak hrozí jejich přeplnění a tím jejich zničení.

Pro srovnání byly vybrány dva různé typy sestav a jejich průtokové objemy závislé na nastavení tlaku na výstupu z modulátoru a na plynovém chromatografu.

1. sestava:
- 1. kolona DB-5MS: 15 m × 0,25 mm
 - 2. kolona SP-2331 10: 3 m × 0,32 mm
 - transfer line A: 40 cm × 0,32 mm,
 - transfer line B: 50 cm × 0,32 mm
 - skladovací kapilára: 35 cm × 0,53 mm
 - mobilní fáze: dusík
 - teplota kolony: 60 °C izotermálně
 - tlaky: modulátor 122,5 kPa, plynový chromatograf 130 kPa.

Průtokový objem do detektoru přes transfer line A: 47,3 ml/min a B: 46,4 ml/min.

2. sestava :
- 1. kolona CP-Sil 5 CB: 10 m × 0,15 mm
 - 2. kolona Supelcowax 10: 1 m × 0,25 mm
 - transfer line A: 40 cm × 0,32 mm
 - transfer line B: 100 cm × 0,32 mm
 - skladovací kapilára: 35 cm × 0,25 mm
 - mobilní fáze: dusík
 - teplota kolony: 60 °C izotermálně
 - tlaky: modulátor 50 kPa, plynový chromatograf 40 kPa.

Průtokový objem do detektoru přes transfer line A: 10,8 ml/min a B: 11,0 ml/min.

Do detektoru přichází mobilní fáze jako součet dvou příspěvků: z první kolony a z druhé kolony (přes transfer line A nebo B). Příspěvek mobilní fáze z 1. kolony je velmi malý (protéká zde okolo 1 ml/min při průměru kolony 0,25 mm a okolo 0,2 ml/min při průměru kolony 0,15 mm). Většina mobilní fáze do detektoru vede z druhé kolony buď přes transfer line B během plnění skladovací kapiláry, nebo přes transfer line A při dávkování obsahu skladovací kapiláry do druhé kolony. Při průchodu přes transfer line A se jedná o velmi krátký okamžik (stovky ms) – pulz. Při větších rozdílech v průtokových objemech mezi transfer line A a B může docházet ke kolísání signálu na detektoru vlivem střídání velkého a malého průtokového objemu.

Průtokové objemy mobilní fáze jsou tedy závislé nejen na vstupních tlacích a rozměrech kolon, ale také na rozměrech ostatních kapilár modulátoru. Pro použití hmotnostního detektoru však stále zůstává průtokový objem i u druhého sestavení příliš velký. Částečným řešením by zde bylo použití děliče toku tak, aby do detektoru proudilo pouze určité množství mobilní fáze. Hmotnostní detektory pracují do průtokových objemů okolo 1 ml/min, což by v případě druhého sestavení znamenalo dělit tok v poměru 1:10. Tím by se však snížila o řád citlivost. Jistým kompromisem by zde byla možnost použití dvou detektorů současně. Do hmotnostního detektoru by proudila 1/10 a např. do plamenově ionizačního detektoru by proudilo zbývajících 9/10. Tímto by se citlivost snížila jen o 10 % a zároveň by bylo možné využít hmotnostních spekter pro přesnou a rychlou identifikaci látek.

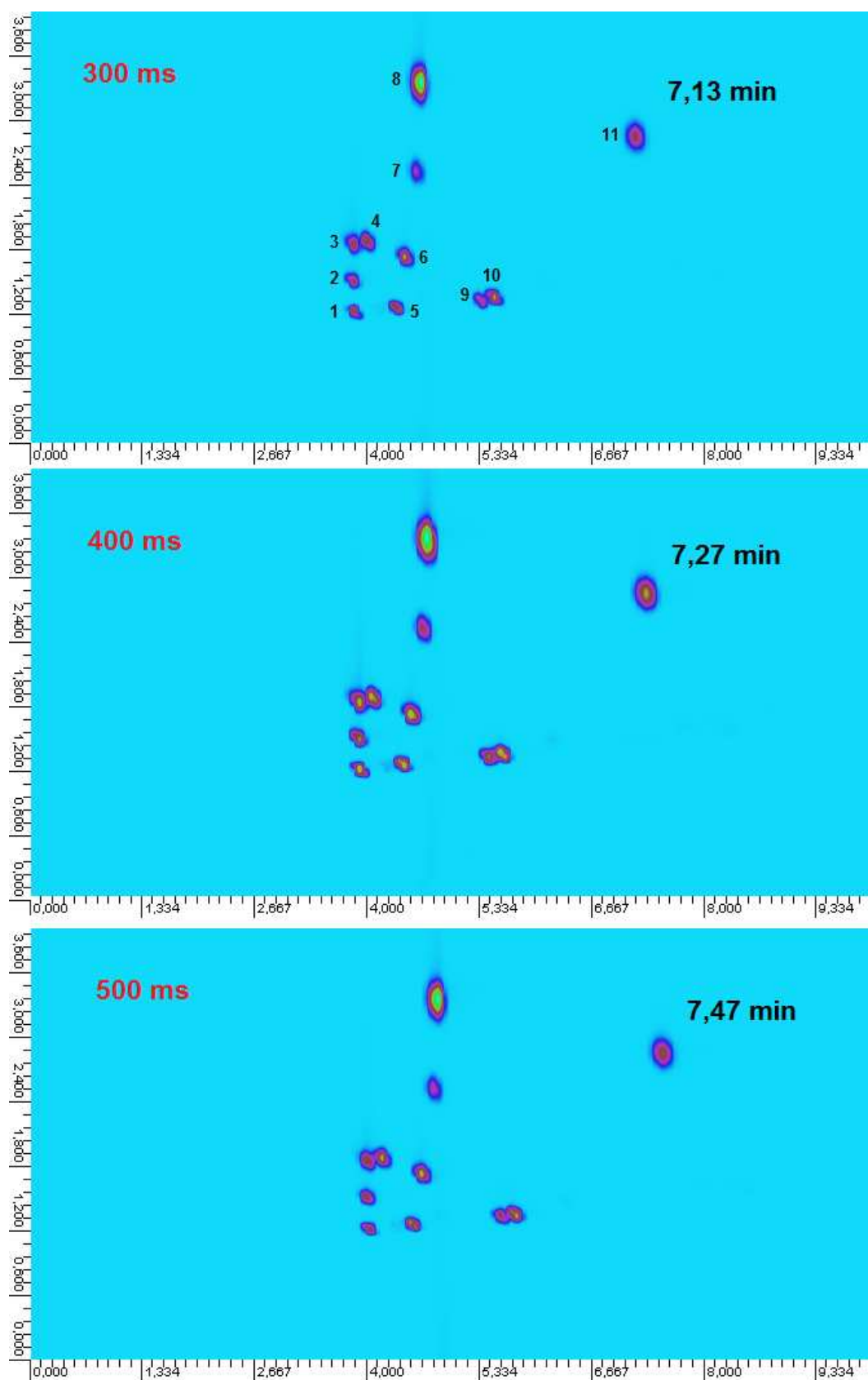
4.5 Optimální délka pulzu

Při volbě délky pulzu musí být brán zřetel na rozměry skladovací kapiláry. Pulz mobilní fáze vedený přes transfer line A musí být natolik silný, aby stačil ze skladovací kapiláry nadávkovat veškerou frakci eluentu do druhé kolony. Ta se zde nashromáždila z první kolony v průběhu časového úseku od konce předchozího pulzu. Po dobu pulzu se jeho tlakem zastaví analýza na první koloně a tím se celková doba analýzy prodlouží. Analýza bude prodloužena o dobu, která se rovná násobku délky pulzu a jejich počtu během analýzy. Tento počet závisí na délce modulační periody. Čím bude modulační perioda kratší, tím větší bude počet pulzů v analýze.

Bude-li pulz zbytečně dlouhý, tak nejen že prodlouží celkovou dobu analýzy, ale také začne ovlivňovat analýzu na druhé koloně. Protože je objemový průtok pulzu zpravidla větší než objemový průtok z transfer line B určené k zásobení druhé kolony mobilní fází, bude docházet ke zvýšení průtokové rychlosti v druhé koloně. Toto zvýšení se projeví poklesem separační účinnosti druhé kolony.

Bude-li pulz krátký, nebude docházet k úplnému nadávkování frakce eluentu ze skladovací kapiláry do druhé kolony. Zbytek této frakce tedy bude nadávkován až pulzem následujícím, což povede ke znehodnocení analýzy z první kolony a tím poklesne separační účinnost systému.

Na obrázku 4.5.1 je porovnání hodnoty retenčního času 2-propanolu v závislosti na zvolené délce pulzu. Směs byla měřena za těchto podmínek při izotermální analýze při 60 °C: výstupní tlak na modulátoru: 220 kPa, tlak na plynovém chromatografu: 200 kPa, modulační perioda: 4 s. Sestava: 1. kolona DB-5MS 15 m × 0,25 mm, 2. kolona Supelcowax 10 3 m × 0,25 mm.



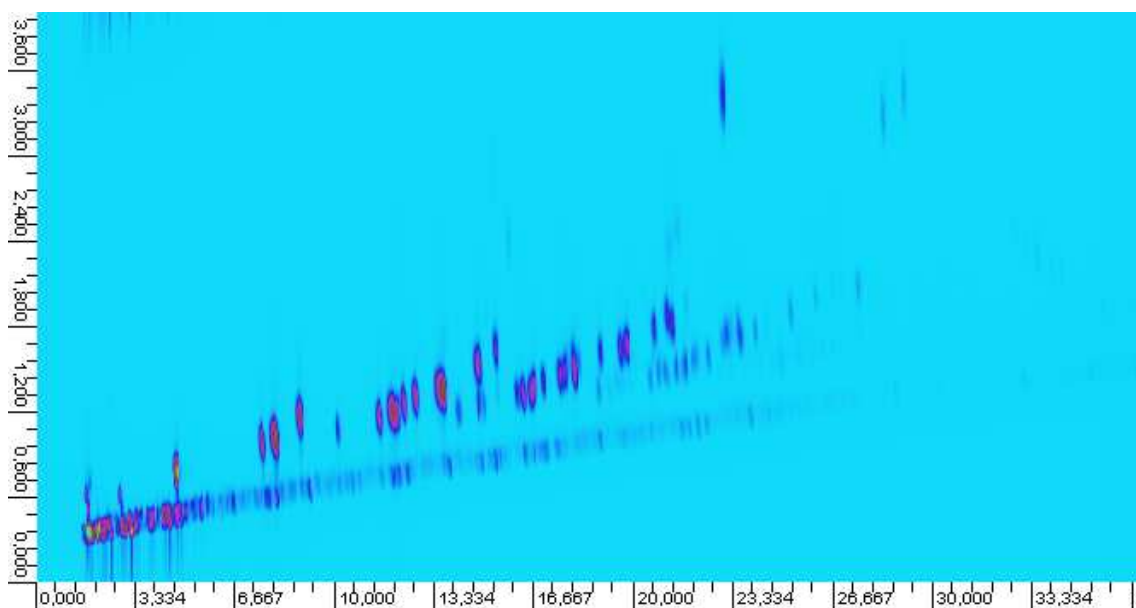
Obrázek 4.5.1: Srovnání konturových grafů pro různé délky pulzu (300, 400 a 500 ms) GCxCG analýzy vyvolávající posuny retenčních časů. Číslování blobů stejné jako na obrázku 4.2.3.

Délka pulzu 300 ms zde plně dostačuje k nadávkování obsahu skladovací kapiláry do druhé kolony, a proto je zde nejvýhodnější. S rostoucí délkou zvolené doby pulzu pozorujeme posun retenčního času 2-propanolu způsobeného zastavováním analýzy na první koloně. Při zvolené kratší délce pulzu již nebylo možné nadávkovat celý obsah skladovací kapiláry do druhé kolony a docházelo tak k horším výsledkům průběhu analýzy.

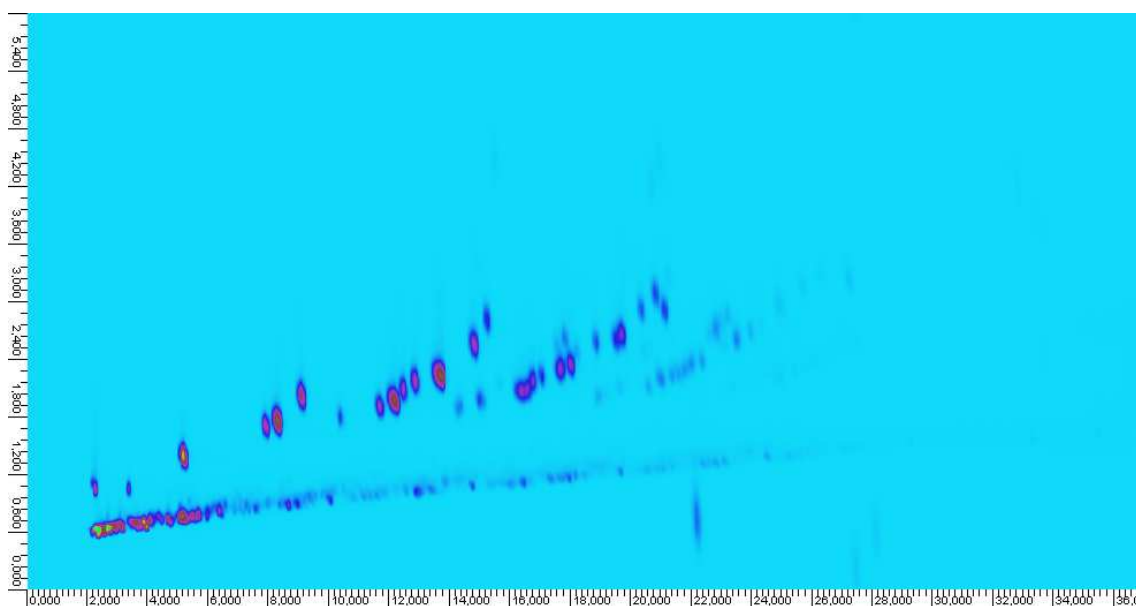
4.6 Porovnání I. kolony

Pro srovnání účinnosti separace na první koloně byly vybrány tyto nepolární kolony: DB-5MS délky 15 m, průměru 0,25 mm a CP-Sil 5 CB délky 10 m, průměru 0,15 mm. Obě zvolené kolony obsahují stejnou stacionární fázi. Jako druhá kolona byla vždy použita kolona Supelcowax 10 délky 1 m a průměru 0,25 mm.

Na obrázku 4.6.1 je konturový graf vzorku benzínu při použití kolony DB-5MS a na obrázku 4.6.2 při použití kolony CP-Sil 5 CB.



Obrázek 4.6.1: Konturový GCxGC chromatogram vzorku benzínu při použití **DB-5MS** kolony. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 4 s, mobilní fáze vodík.



Obrázek 4.6.2: Konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití **CP-Sil 5 CB** kolony. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 40 kPa, tlak modulátor: 50 kPa, puls: 0,3 s, modulační perioda: 6 s, mobilní fáze vodík.

Podmínky obou analýz nejsou stejné z důvodu neustálých změn sestav systému a z důvodu rozdílných optim lineárních průtokových rychlostí kolon. Jsou však zachovány optimální podmínky pro každou sestavu systému. Při srovnání obou konturových grafů (4.6.1 a 4.6.2) není na první pohled příliš patrná rozdílná separační účinnost. Relativní produkt rozlišení pro první dimenzi a píková kapacita:

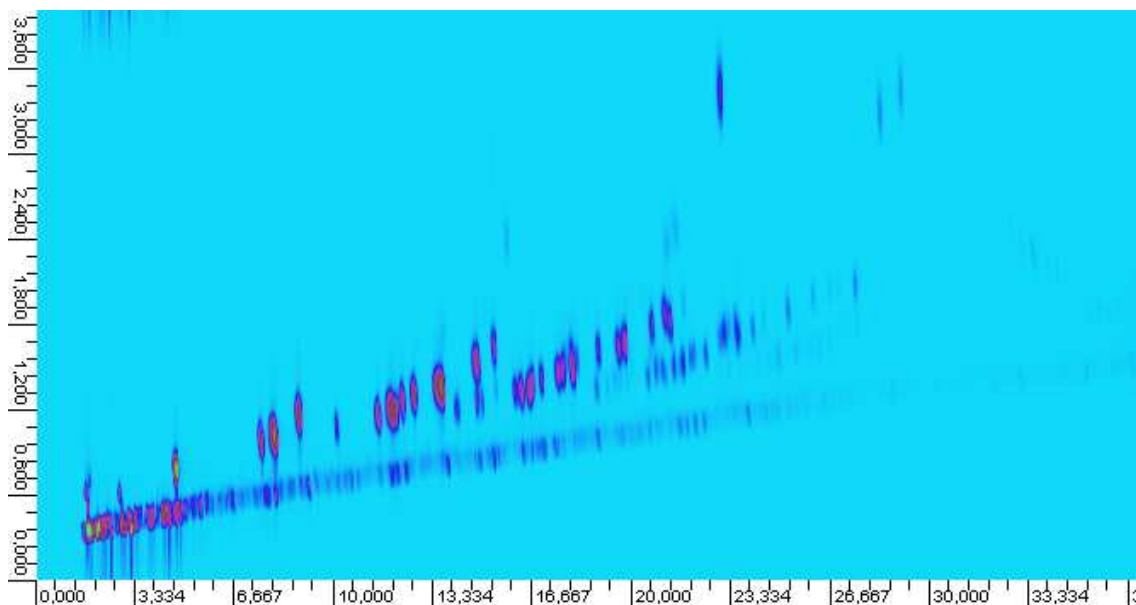
1. DB-5MS: $r_1 = 6,73 \cdot 10^{68}$ $n_{GC \times GC_1} = 175,15$
2. CP-Sil 5 CB: $r_2 = 4,64 \cdot 10^{37}$ $n_{GC \times GC_2} = 93,66$.

Při srovnání hodnot relativního produktu rozlišení je rozdíl několika desítek řádů značný. Také rozdíl hodnot píkových kapacit je oproti předpokladu vyšší. Podle vyšších hodnot obou parametrů byla vybrána kolona DB-5MS jako účinnější.

4.7 Porovnání II. kolony

Pro porovnání účinnosti separace na druhé koloně byly vybrány délky 1, 2 a 3 m kolony Supelcowax 10 průměru 0,25 mm. Stejně jako při srovnání první kolony, tak i zde byl použit vzorek benzínu. Jako první kolona byla vždy použita DB-5MS délky 15 m a průměru 0,25 mm. Ve srovnání byl kladen důraz na to, jak se projeví rozdíl délek kolon v účinnosti separace celého systému.

Na obrázku 4.7.1 je konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití 1m kolony.

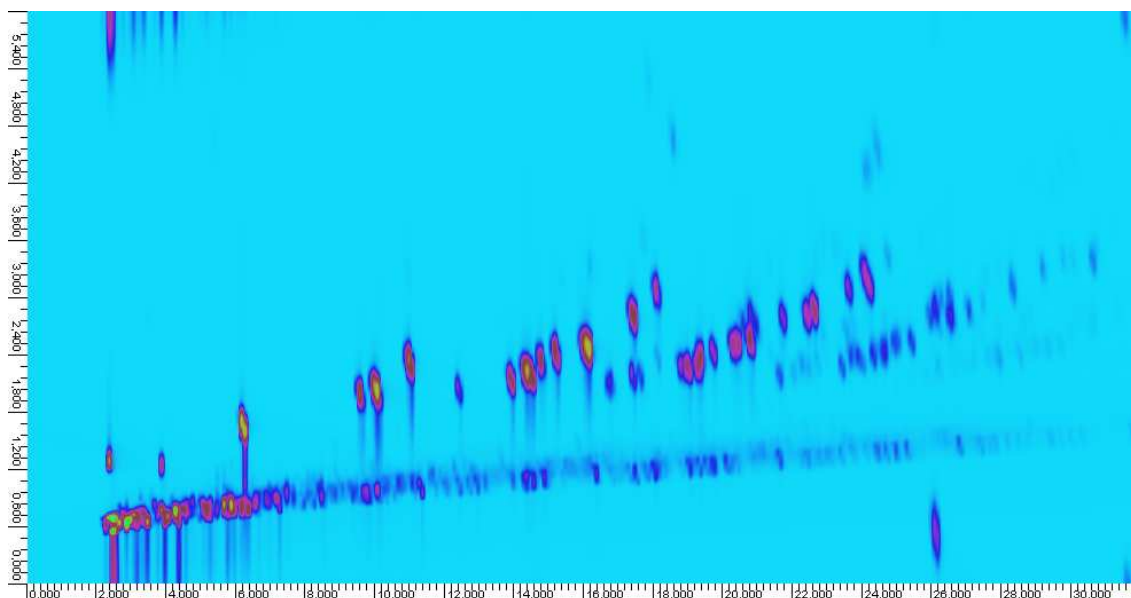


Obrázek 4.7.1: Konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití **1m kolony** Supelcowax 10. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 4 s, mobilní fáze vodík.

Relativní produkt rozlišení pro druhou dimenzi a píková kapacita 1m kolony:

$$r_1 = 7,99 \cdot 10^{-8} \quad n_{GC \times GC1} = 89,62.$$

Na obrázku 4.7.2 je konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití 2m kolony. Aby byla zachována lineární průtoková rychlost druhé kolony stejná jako při použití 1m kolony, musela být prodloužena modulační perioda ze 4 s na 5 s.

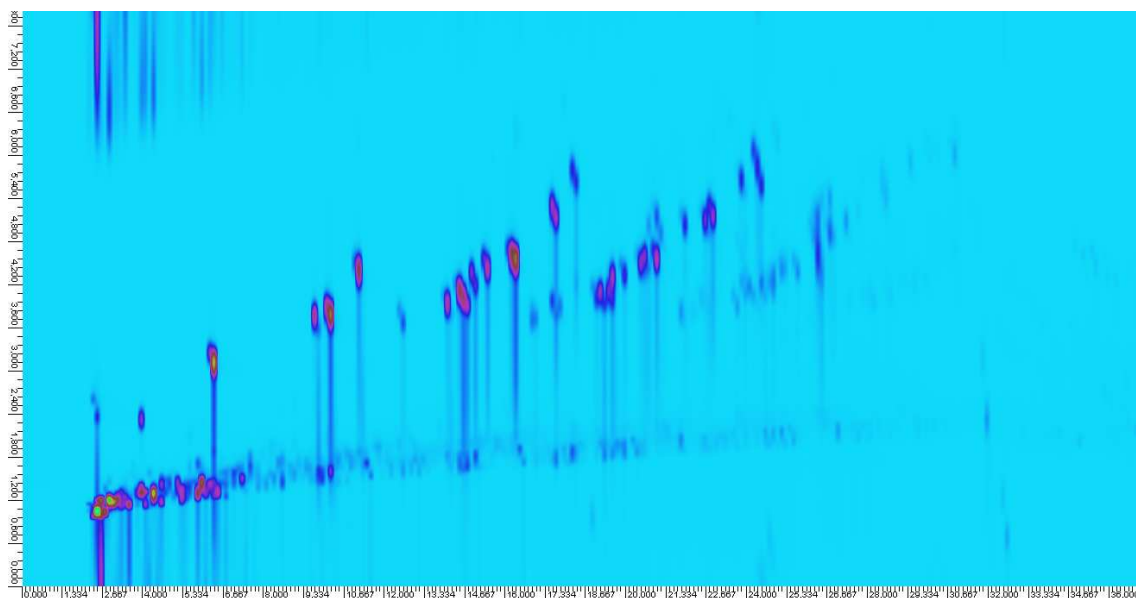


Obrázek 4.7.2: Konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití **2m kolony** Supelcowax 10. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,3 s, modulační perioda: 5 s, mobilní fáze vodík.

Relativní produkt rozlišení pro druhou dimenzi a píková kapacita 2m kolony:

$$r_2 = 5,71 \cdot 10^{-5} \quad n_{GC \times GC 2} = 115,71.$$

Na obrázku 4.7.3 je konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití 3m kolony. Aby byla zachována lineární průtoková rychlost druhé kolony stejná jako při použití 1m a 2m kolony, musela být prodloužena modulační perioda na 6 s.



Obrázek 4.7.2: Konturový GC×GC chromatogram vzorku benzínu při použití **3m kolony** Supelcowax 10. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,3 s, modulační perioda: 6 s, mobilní fáze vodík.

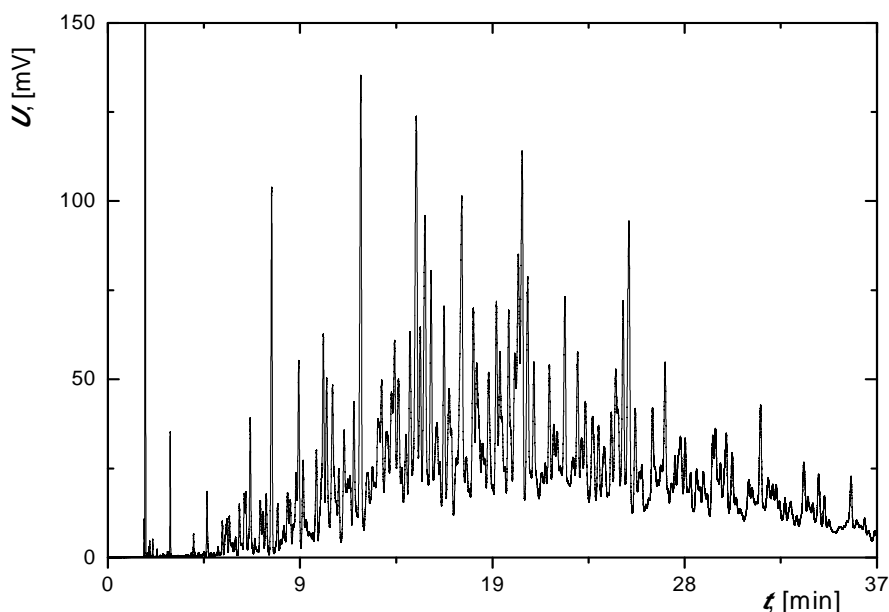
Relativní produkt rozlišení pro druhou dimenzi a píková kapacita 3m kolony:

$$r_3 = 6,21 \cdot 10^{-2} \quad n_{GC \times GC 3} = 196,37.$$

Srovnáním hodnot relativního produktu rozlišení a píkové kapacity byla potvrzeno, že s rostoucí délkou kolony roste účinnost její separace. S rostoucí délkou kolony je však nutné prodloužit i modulační periodu. Je tedy proto vhodné zvolit kompromisní řešení mezi rozlišením na druhé koloně a délkou modulační periody. Při dlouhých modulačních periodách nad 10 s se velmi citelně prodlouží celková doba analýzy.

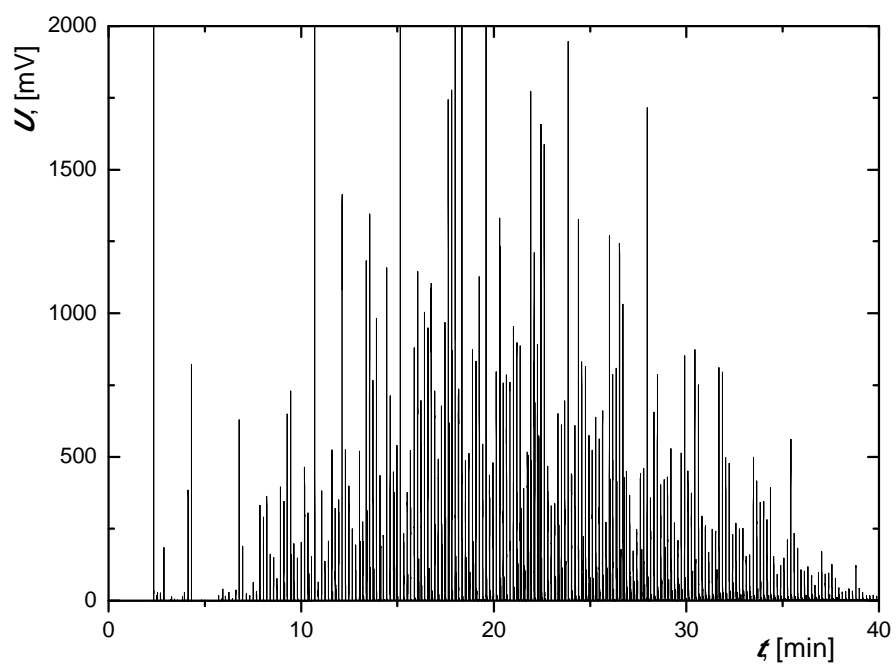
4.8 Petrolej

Jako příklad komplexního reálného vzorku byl vybrán petrolej, protože většina látek, které obsahuje, jsou v něm zastoupeny v řádově stejném množství. Navzdory velkému množství látek, které obsahuje, je díky jeho teplotě varu (okolo 150 °C) jeho analýza poměrně rychlá. Vzorek petroleje byl změřen za těchto podmínek: 1. kolona DB-5MS 15 m × 0,25 mm, 2. kolona Supelcowax 10 3 m × 0,25 mm, teplotní program: 60 °C 3 °C/min 220 °C a poté 3,33 min izotermálně, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 6 s a mobilní fáze vodík. Na obrázku 4.8.1 je klasický 1D-GC chromatogram získaný analýzou bez činnosti modulátoru. Jelikož se při analýze uplatňuje především nepolární první kolona (druhá polární kolona se zde prakticky neuplatňuje díky své pětinové délce oproti první koloně), je vidět, že látky nejsou oddělené a množství nerozlišených píků vytvořilo útvar připomínající kopec, ze kterého vyčnívají pouze dominantní píky.

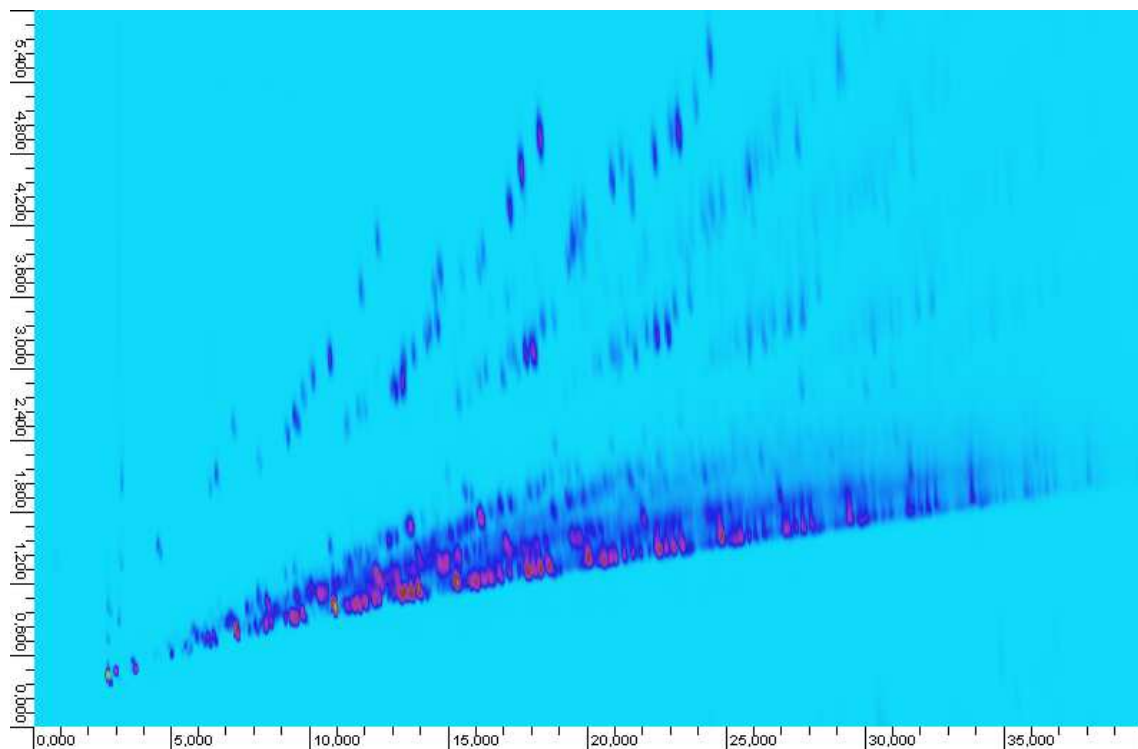


Obrázek 4.8.1: Klasický 1D-GC chromatogram petroleje.

Na obrázku 4.8.2 je 1D-GC×GC chromatogram stejného vzorku petroleje při použití modulátoru. Asi 10× se zvýšila citlivost a všechny píky se rozdělily až na základní linii.



Obrázek 4.8.2: 1D-GC×GC chromatogram petroleje.



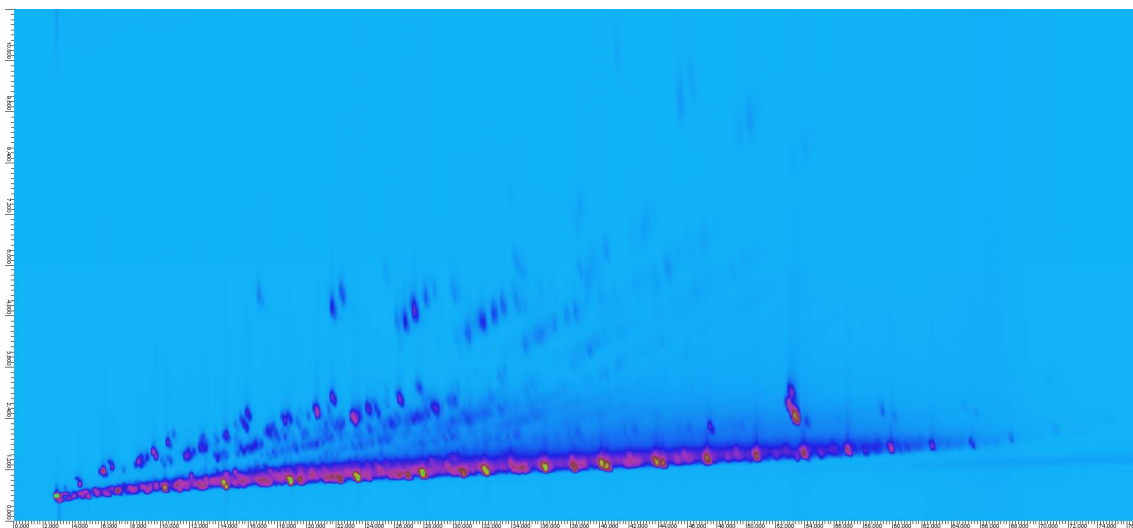
Obrázek 4.8.3: Konturový GC×GC chromatogram petroleje.

Na obrázku 4.8.3 je konturový graf vytvořený programem GC Image z 1D-GC×GC chromatogramu (obrázek 4.8.2). Bloby nepolárních alifatických uhlovodíků obsažených v petroleji jsou seřazeny podle jejich bodu varu jako základní linie. Homologické řady, kdy látky těchto řad jsou seřazeny na přímce a jejich polarita roste s retenčním časem na druhé koloně, obsahují nejspíše substituované aromatické uhlovodíky. Vzhledem k tomu, že plynový chromatograf není vybaven hmotnostním detektorem, a že používání retenčních indexů látek v GC×GC dosud nebylo uspokojivě vyřešeno, nebylo možné látky přesně identifikovat.

4.9 Nafta

Jako další komplexní reálný vzorek byla vybrána motorová nafta. Ve srovnání s petrolejem obsahuje ještě větší množství látek, avšak její teplota varu může dosahovat i 250 °C. Vzorek motorové nafty byl změřen za těchto podmínek: 1. kolona 10 m × 0,15 mm CP-Sil 5 CB, 2. kolona 1 m × 0,25 mm Supelcowax 10, teplotní program: 60 °C 3 °C/min 260 °C, poté 10,33 min izotermálně, split 1:100, nástřik: 300 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 40 kPa, tlak modulátor: 50 kPa, puls: 0,2 s, modulační perioda: 12 s, mobilní fáze vodík.

Na obrázku 4.8.3 je konturový GC×GC chromatogram vzorku motorové nafty.



Obrázek 4.8.3: Konturový GC×GC chromatogram motorové nafty.

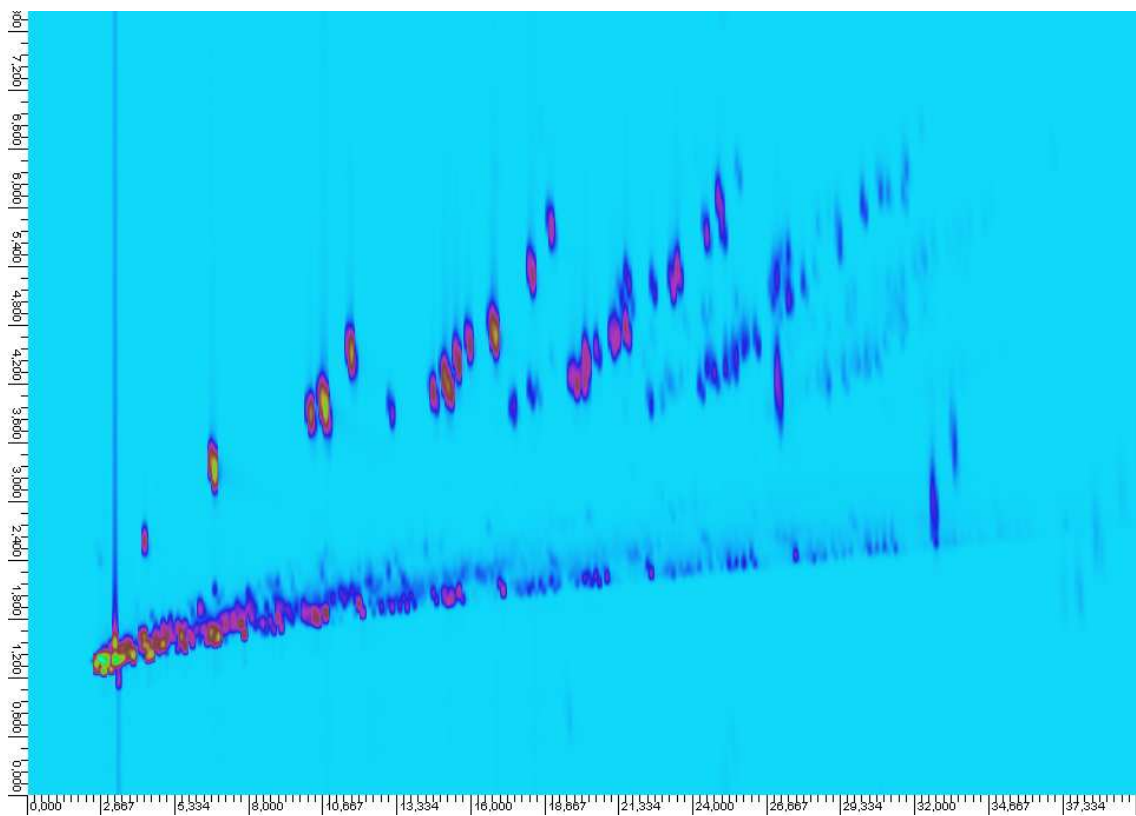
Při srovnání konturového grafu s publikovanými články o kvalitativním zastoupení látek v motorové naftě pomocí GC×GC-TOF-MS lze soudit, že nejnižší retenční časy na druhé koloně mají alifatické uhlovodíky, které jsou zde seřazené podle rostoucí teploty varu a tvoří základní linii. Dále pak na ose y jsou patrné homologické řady substituovaných aromatických uhlovodíků, které tvoří tři základní oblasti. Oblast blobů mající nejnižší retenční časy tvoří monosubstituované aromáty. Další oblast blobů tvoří disubstituované aromáty a poslední, s nejdelšími retenčními časy na druhé koloně, tvoří trisubstituované aromáty. Zde přesná identifikace opět nemohla být provedena z důvodu chybějících hmotnostních spekter chromatogramu.

4.10 Stanovení ethanolu v benzínu

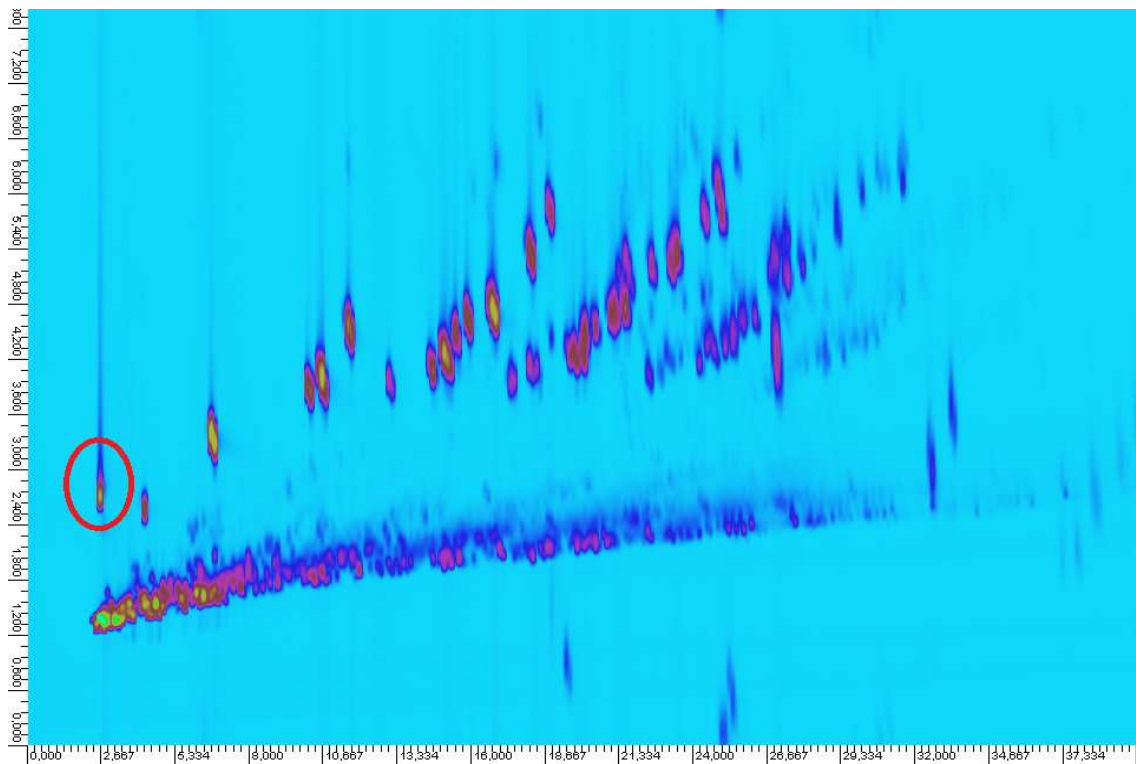
Za účelem studia možného využití GC×GC ke kvantitativní analýze bylo provedeno stanovení ethanolu ve vzorku benzínu Natural 95. Pro identifikaci blobu ethanolu byl nejprve změřen vzorek benzínu BASF 95, který ethanol neobsahoval (obrázek 4.10.1). Poté byl změřen vzorek benzínu Natural 95 (obrázek 4.10.2) a porovnáním obou grafů byl nalezen blob ethanolu (na obrázku 4.12.2 je vyznačen červeným kruhem).

Vzorky benzínu byly měřeny na: 1. kolona 15 m DB-5MS a 2. kolona 3 m Supelcowax 10. Podmínky analýzy: 35 °C 3 °C/min 130 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,3 s, modulační perioda: 6 s, mobilní fáze vodík.

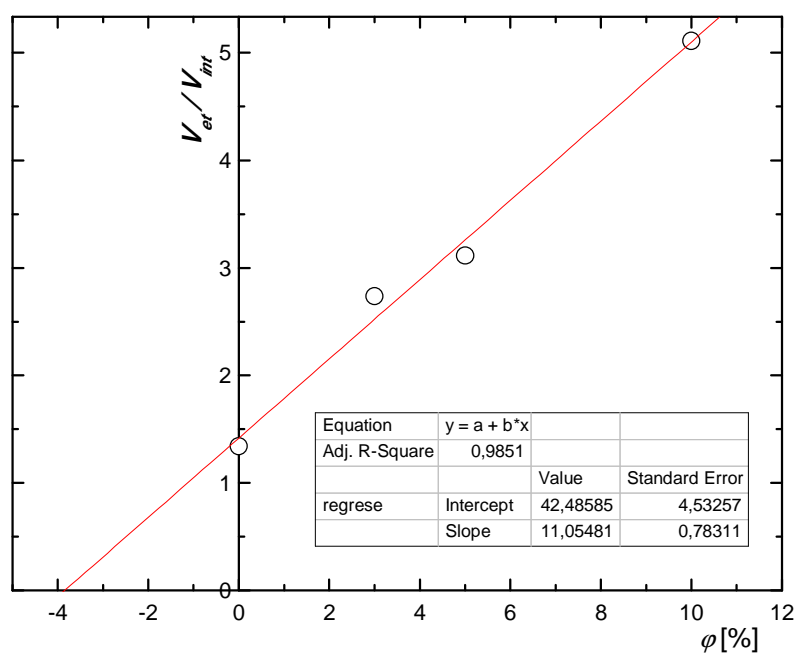
Byla připravena řada kalibračních standardů obsahující přídavek ke vzorku 3, 5 a 10 % (objemových) ethanolu a následně bylo do všech standardů včetně samotného vzorku benzínu přidáno 5 % (objemových) isobutanolu jako vnitřního standardu. Poté byly záznamy chromatogramů standardů i vzorku převedeny pomocí programu GC Image na konturové grafy. Byla provedena automatická detekce blobů a u blobu ethanolu a isobutanolu byl zobrazen jejich objem. Absolutní hodnoty objemů se pro jednotlivé analýzy velmi lišily (okolo 50 %), protože program i přes stále stejné nastavené parametry pro výpočet konturového grafu poskytuje rozdílné výsledky. Avšak poměry těchto objemů byly reprodukovatelné a byly použity pro konstrukci kalibrační přímky (obrázek 4.10.3) u níž byly vypočteny parametry regresní přímky.



Obrázek 4.10.1: Benzín BASF 95 bez ethanolu.



Obrázek 4.10.2: Benzín Natural 95 s ethanolu. Červený kruh označuje blob ethanolu.



Obrázek 4.10.3: Kalibrační přímka obsahu ethanolu ve vzorku benzínu.

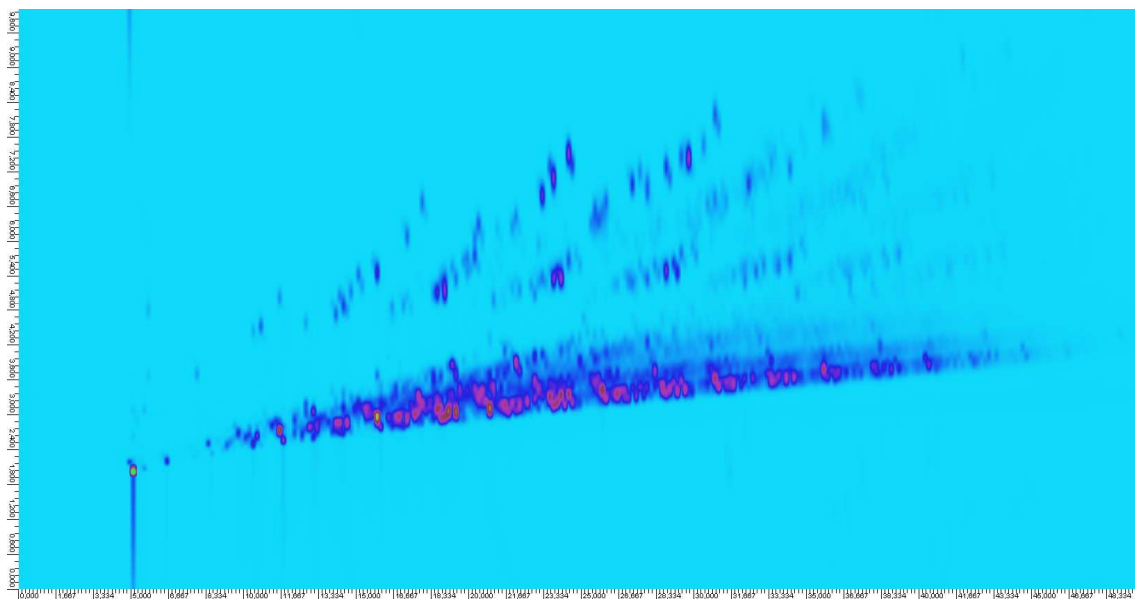
Byla provedena statistická analýza a zjištěny hodnoty směrodatné odchylky. Bylo vypočteno, že vzorek benzínu Natural 95 obsahoval $(3,8 \pm 0,3)$ % ethanolu. Podle evropské normy EN 228 (2008) musí benzíny na našem trhu obsahovat nejméně 4,1 % ethanolu, což při porovnání s výsledkem získaným z GC×GC analýzy ukazuje na správný výsledek.

4.11 Vliv mobilní fáze

Testování modulátoru a hledání prvních optimálních podmínek modulace byly provedeny s použitím dusíku jako mobilní fáze. Později byl dusík vyměněn za vodík, který podle van Deemterovy teorie umožňuje větší tlakový rozsah při zachování optimální lineární průtokové rychlosti. Této vlastnosti bylo třeba využít kvůli neustále se měnícím rozměrům skladovací kapiláry a transfer line B a z důvodu hledání optimální lineární průtokové rychlosti na druhé koloně.

Na obrázku 4.11.1 je konturový graf vzorku petroleje při použití dusíku jako mobilní

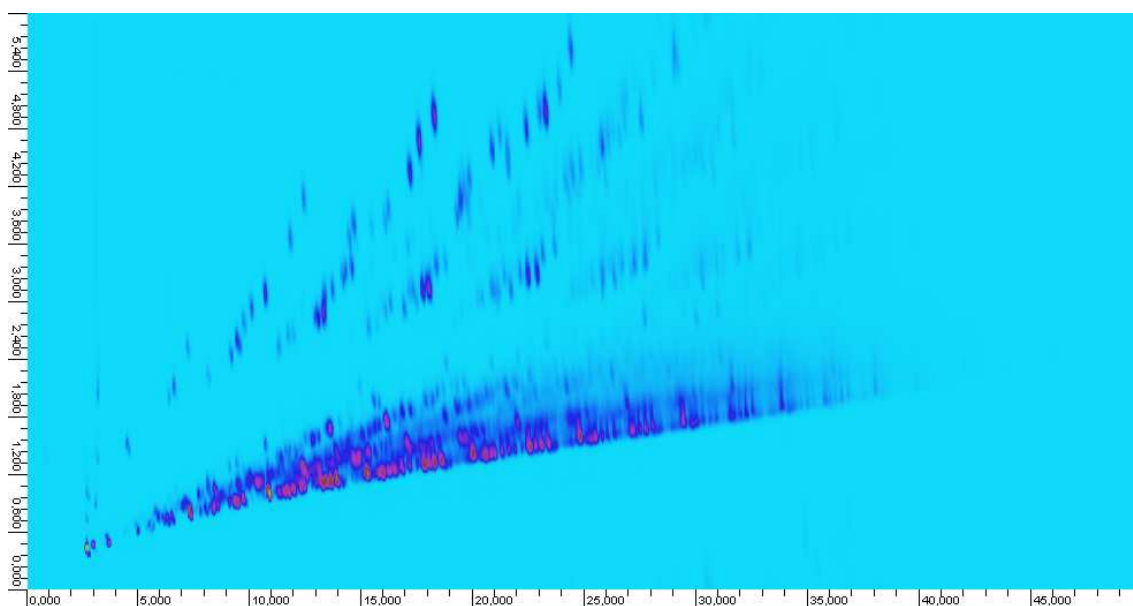
fáze a na obrázku 4.11.2 je stejný vzorek petroleje za stejného teplotního programu, na stejných kolonách a se stejnou délkou pulzu při použití vodíku jako mobilní fáze. Liší se v délce modulační periody a v rozlišení na druhé koloně. Zatímco při použití dusíku jako mobilní fáze byla modulační perioda 10 s, při použití vodíku stačila modulační perioda 6 s. Při porovnání obou obrázků (4.11.1 a 4.11.2) je na první pohled patrné, že při použití vodíku jako mobilní fáze se zlepšilo rozlišení na druhé koloně.



Obrázek 4.11.1: Vzorek petroleje, jako mobilní fáze byl použit **dusík**. 60 °C 3 °C/min 220 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 68 kPa, tlak modulátor: 80 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 10 s.

Při přechodu na vodík jako mobilní fázi musely být upraveny průtokové objemy plynů potřebných pro správnou funkci plamenově ionizačního detektoru. Protože se nyní zvýšilo množství vodíku proudícího na detektor v důsledku použití modulátoru, muselo být v konfiguraci detektoru ubráno jeho množství proudící přímo do detektoru. V důsledku toho muselo být sníženo také množství dusíku jako make-up detektoru.

Nastavením vyšších tlaků na modulátoru i chromatografu (více než 150 kPa) se začaly projevovat pulzy vodíku v detektoru jako náhlé kolísání základní linie, čímž se řádově zvýšil šum a klesla tak citlivost.



Obrázek 4.11.2: Vzorek petroleje, jako mobilní fáze byl použit **vodík**. 60 °C 3 °C/min 220 °C, split 1:100, nástřik: 280 °C, FID: 300 °C, tlak GC: 70 kPa, tlak modulátor: 85 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 6 s.

Relativní produkt rozlišení a píková kapacita:

1. dusík: $r_1 = 6,66 \cdot 10^{-11}$ $n_{GC \times GC1} = 100,67$
2. vodík: $r_2 = 4,57 \cdot 10^{-4}$ $n_{GC \times GC2} = 137,56$.

Srovnáním výsledných hodnot obou parametrů vyšlo, že za daných podmínek je lepší použít vodík jako mobilní fáze. Je zde však omezení, protože při tlacích vyšších než přibližně 150 kPa dochází ke kolísání základní linie chromatogramu a tím ke snížení citlivosti. Proto při nastavení nižších tlaků je výhodnější použít vodík jako mobilní fáze. Modulační perioda je kratší a separace probíhá s vyšším relativním produktem rozlišení. Při nastavení vyšších tlaků je výhodnější použití dusíku jako mobilní fáze z důvodu zachování stále stejné citlivosti a tím i meze detekce.

V kapitole 4.3 je popsána závislost pro přesné nastavení tlaku na plynovém chromatografu a na výstupu z modulátoru pro dusík jako mobilní fázi. Při použití vodíku jako mobilní fáze bude oblast funkce modulace okolo silnější přímky udávající optimální nastavení tlaku širší.

4.12 Délky skladovací kapiláry a transfer line

V průběhu práce byly několikrát změněny rozměry skladovací kapiláry a transfer line B. Důvodem bylo zachování optimálních lineárních průtokových rychlostí kolon vzhledem k požadovaným délkám modulačních period a pulzů.

Transfer line A sloužící k nadávkování obsahu skladovací kapiláry do druhé kolony byla se svou délkou 40 cm a průměrem 0,32 mm považována jako výchozí vzhledem k tomu, že z konstrukčních důvodů zapojení modulátoru do plynového chromatografu již nemohla být více zkrácena.

Transfer line B sloužící k zásobení druhé kolony mobilní fází byla upravována tak, aby na druhé koloně byla zachována optimální lineární průtoková rychlost. Její rozměry jsou tedy závislé na rozměrech druhé kolony.

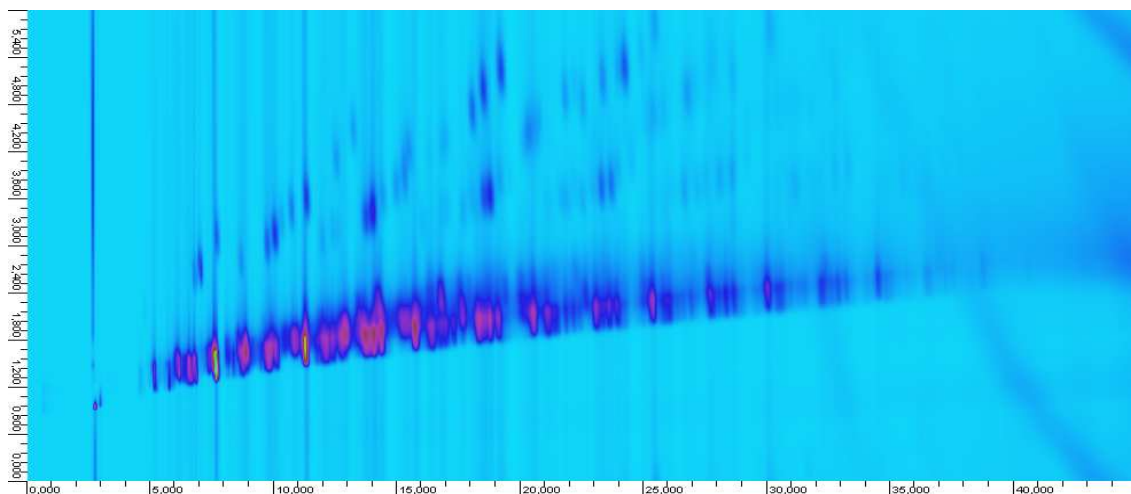
Délka pulzu je závislá na rozměrech skladovací kapiláry. Jelikož zde byla transfer line A neměnná, musela se délka pulzu přizpůsobit rozměru skladovací kapiláry. Čím větší je objem skladovací kapiláry, tím delší pulz pro nadávkování celého obsahu skladovací kapiláry do druhé kolony je potřeba.

Nebylo možné udělat kritické srovnání vlivu rozměrů skladovací kapiláry na délku pulzu a modulační periody, protože při změně skladovací kapiláry byly změněny i rozměry druhé kolony a transfer line B.

4.13 Porovnání vlivu spojovacích prvků na úroveň separace

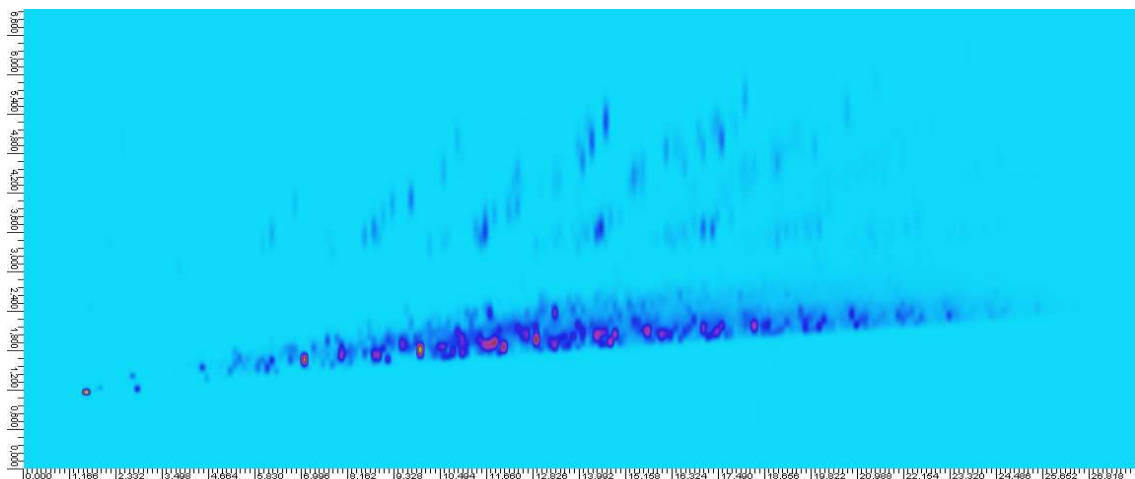
V průběhu práce s modulátorem vzniklo podezření, že příčinou nedostatečné separace píků až k základní linii chromatogramu mohou být větší mrtvé objemy ve spojovacích prvcích kapilár modulátoru. Tato nedostatečná separace se především projevovala v konturovém grafu jako bloby, které velmi chvostují (obrázek 4.13.1).

Modulátor byl rozmontován a vyměněny spojovací prvky T-brass connectors 1/16 in. za Silflow™. Bohužel do nových prvků nebylo možné připojit kapiláru většího průměru než 0,32 mm, a proto musela být vyměněna i skladovací kapilára. Původní kapilára o rozměrech 35 cm × 0,53 mm byla tedy vyměněna za kapiláru o rozměrech 70 cm × 0,32 mm.



Obrázek 4.13.1: Vzorek petrolej (60 °C 3 °C/min 220 °C, split 1:150, nástřik: 280 °C, FID: 250 °C, tlak GC: 130 kPa, tlak modulátor: 140 kPa, puls: 0,3 s, modulační perioda: 6 s), kapiláry v modulátoru spojeny pomocí **T-brass connectors 1/16 in.**

Na obrázku 4.13.2 je konturový graf vzorku petroleje změřeného za přibližně stejných podmínek jako v předchozím případě. Na první pohled je patrné, že chvostování blobů bylo touto výměnou výrazně potlačeno. Změnou rozměrů skladovací kapiláry se však i podstatně změnilo nastavení tlaků mobilní fáze na výstupu z modulátoru a na plynovém chromatografu. Jelikož byl nyní zapotřebí vyšší tlak pro dávkování frakce eluentu ze skladovací kapiláry do druhé kolony a druhá kolona zůstala nezměněna, bylo zapotřebí upravit délku transfer line A či B. Transfer line A již nebylo možné z konstrukčních důvodů umístění modulátoru v plynovém chromatografu zkrátit, a proto bylo nutné zkrátit transfer line B. Z původní délky 1,5 m byla zkrácena na 1,0 m a tím bylo zajištěno zásobení druhé kolony mobilní fází tak, aby její lineární průtoková rychlost byla optimální.



Obrázek 4.13.2: Vzorek petroleje (40 °C 5 °C/min 220 °C, split 1:75, nástřik: 280 °C, FID: 250 °C, tlak GC: 170 kPa, tlak modulátor: 180 kPa, puls: 0,5 s, modulační perioda: 8 s), kapiláry v modulátoru spojeny pomocí **Silflow**TM.

Exaktní srovnání pouze spojovacích prvků nebylo možné provést z důvodu chybějící možnosti použití 0,53 mm široké kapiláry u spojovacích prvků SilflowTM. Proto výrazné potlačení chvostování blobů může být přičteno součtu více vlivů, než jen výměnou spojovacích prvků. Mohlo by být ovlivněno i tím, že skladovací kapilára musela být menšího průměru či jiným rozměrem transfer line B.

5 Shrnutí

1. Funkčnost systému byla vyzkoušena na modulaci čistého pentanu. Citlivost detekce ve srovnání s 1D-GC byla 40× vyšší.
2. Pro vyzkoušení a ověření správné funkce GC×GC byla vybrána směs 11 rozpouštědel. Pro jejich separaci byly nalezeny tyto optimální podmínky při izotermální analýze při 60 °C: výstupní tlak na modulátoru: 220 kPa, tlak na plynovém chromatografu: 200 kPa, délka pulzu: 0,5 s, modulační perioda: 4 s. Za těchto podmínek byl relativní produkt rozlišení $r = 1,08 \cdot 10^6$ a píková kapacita $n_{GC \times GC} = 168$.
3. Byla nalezena závislost nastavení tlaku plynového chromatografu na výstupním tlaku z modulátoru, která byla vynesena do grafu. Bylo tak nalezeno tlakové rozmezí modulace.
4. Změřeny byly průtokové objemy mobilní fáze na vstupu do detektoru a porovnány jejich hodnoty pro dvě různé sestavy systému.
5. Byla nalezena optimální délka pulzu 300 ms a její závislost na posunu retenčních časů rozdělených látek. S rostoucí délkou pulzu se při stejné modulační periodě prodlužuje celková doba analýzy.
6. Bylo provedeno srovnání dvou kolon v první dimenzi: 15m × 0,25 mm DB-5MS a 10 m × 0,15 mm CP-Sil 5 CB pomocí relativního produktu rozlišení a píkové kapacity. Větší hodnoty obou parametrů měla kolona DB-5MS.
7. Bylo provedeno srovnání rozdílných délek kolon v druhé dimenzi. Pomocí relativního produktu rozlišení a píkové kapacity bylo zjištěno, že 3m kolona má ve srovnání s 1m a 2m podstatný vliv na kvalitu separace systému a prodloužení celkové doby analýzy není příliš podstatné.

8. Změřeny byly vzorky petroleje a motorové nafty.
9. Bylo provedeno stanovení ethanolu v reálném vzorku benzínu. Bylo vypočteno, že vzorek benzínu Natural 95 obsahoval $(3,8 \pm 0,3) \%$ ethanolu.
10. Pomocí porovnání hodnot relativního produktu rozlišení a píkovej kapacity bylo zjištěno, že použitím vodíku jako mobilní fáze se zlepšila účinnost separace.
12. Byl studován vztah rozměru skladovací kapiláry a transfer line B na délku pulzu a modulační periody.
13. Výměnou spojovacích prvků kapilár a kolon v modulátoru za jejich kapilární analogy byla zlepšena úroveň separace.

6 Závěr

Cílem diplomové práce bylo sestrojít, vyzkoušet a optimalizovat podmínky použití pulzního tlakového modulátoru pro komprehenzivní plynovou chromatografii na plynovém chromatografu s plamenově ionizačním detektorem. Byly nalezeny optimální tlakové podmínky analýzy na vybrané směsi těkavých rozpouštědel. Dále byly popsány tlakové závislosti v systému a vztahy mezi rozměry jednotlivých kapilár modulátoru a kolon a mezi délkami modulační periody a pulzu.

Pro porovnání účinnosti separace v první dimenzi byly porovnány dvě nepolární kolony ($15\text{ m} \times 0,25\text{ mm}$ DB-5MS a $10\text{ m} \times 0,15\text{ mm}$ CP-Sil 5 CB) se stejnou stacionární fází. Jako vhodnější se ukázalo použití DB-5MS pro větší separační účinnost. V druhé dimenzi byly porovnány kolony Supelcowax 10 o délkách 1, 2 a 3 m a bylo zjištěno, že použitím 3m kolony se celková délka analýzy sice prodlouží, ale nárůst separační účinnosti v druhé dimenzi je velmi patrný.

Měřením bylo zjištěno, že vypočtené parametry pro porovnání separační účinnosti systému (píková kapacita a relativní produkt rozlišení) se ukázaly jako nevhodné. Ani jeden parametr totiž nepočítá s takto vysokým počtem separovaných látek jako tomu je právě u GC×GC. Relativní produkt rozlišení může nabývat extrémně malých hodnot (při součinu jednotlivých rozlišení pod 1,0) nebo extrémně vysokých hodnot (při součinu jednotlivých rozlišení nad 1,0). Píková kapacita při nulovém rozlišení v druhé dimenzi nabývá nuly.

Byly změřeny reálné vzorky benzínu, petroleje a motorové nafty. U vzorku benzínu bylo stanoveno množství přidávaného ethanolu jako bioložky na 4 % (objemové).

Pulzní tlakový modulátor byl upraven výměnou spojovacích prvků, což přispělo ke zlepšení celkové separace. V budoucnu by bylo vhodné vyměnit manuální regulaci tlaku za elektronickou a přidat možnost nastavení tlaku pro každou transfer line kapiláru zvlášť.

7 Seznam zkratek a symbolů

1D-GC - jednorozměrná plynová chromatografie

2D - dvourozměrný (prostor)

2D-GC - dvourozměrná plynová chromatografie

3D - třírozměrný (prostor)

DFM - modulátor s diferenciálním tokem

FSM - modulátor s přepínaným tokem

GC - plynová chromatografie

GC×GC - komprehenzivní plynová chromatografie

GC×GC-FID - komprehenzivní plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem

GC×GC-TOF-MS - komprehenzivní plynová chromatografie s time-of-flight hmotnostním detektorem

GC-FID - plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem

k - retenční faktor

L - délka kolony [m]

n - celkový počet píků na chromatogramu

PFM - tlakový pulzní (fluidní) modulátor

r - relativní produkt rozlišení

$R_{j,k}$ - rozlišení

t - čas [min, s, ms,]

t_M - mrtvý čas mobilní fáze [min]

t_R - retenční čas [min]

t_R' - redukovaný retenční čas [min]

U - napětí [V, mV]

V - objem [l]

$w_{1/2}$ - šířka píku v polovině výšky [min, ms]

8 Dodatek – slovník pojmů

dimenze – rozměr nebo vlastnost udávající velikost (míru) něčeho (zejména v prostoru)

heart-cut – technika dvourozměrné plynové chromatografie

heater-based – technika komprehenzivní plynové chromatografie založená na termodesorpci ve smyčce kapiláry

komprehenzivní plynová chromatografie – podskupina dvourozměrné plynové chromatografie, kdy celý nadávkovaný vzorek je separován vždy na obou kolonách

konturový graf – graf, kdy na ose x je retenční čas první kolony [min], na ose y retenční čas druhé kolony [s] a intenzita signálu je zobrazena jako vrstevnice

kryogenní modulátor – modulátor pracující na principu vymrazování části smyčky kapiláry kryogenním médiem

modulační perioda – celková doba od počátku tlakového pulzu do začátku následujícího pulzu

modulátor – zařízení umožňující zachytávání frakce eluentu z první kolony a jeho následné bezezbytkové dávkování do druhé kolony

ortogonalita – retenční čas v první dimenzi je nezávislý na retenčním čase v druhé dimenzi, mezi jednotlivými retencemi není korelace

pulz – doba, po kterou je dávkován obsah skladovací kapiláry do druhé kolony

skladovací kapilára – kapilára mezi dvěma spojovacími prvky pulzního modulátoru sloužící k zachytávání eluentu z první kolony

transfer line A – kapilára vedoucí z trojcestného ventilu do prvního spojovacího prvku (ten zde spojuje první kolonu a skladovací kapiláru), slouží k nadávkování obsahu skladovací kapiláry do druhé kolony

transfer line B – kapilára vedoucí z trojcestného ventilu do druhého spojovacího prvku (ten zde spojuje druhou kolonu a skladovací kapiláru), slouží zásobení druhé kolony mobilní fází

9 Použitá literatura

1. Klee, M. S.; Blumberg, L. M.,
Measurement of retention in comprehensive two-dimensional gas chromatography using flow modulation with methane dopant.
Journal of Chromatography A **2010**, 1217, 1830-1837.
2. Dunn, M.; Shellie, R.; Morrison, P.; Marriott, P.,
Rapid sequential heart-cut multidimensional gas chromatographic analysis.
Journal of Chromatography A **2004**, 1056, 163-169.
3. Harvey, P. M.; Shellie, R. A.,
Factors affecting peak shape in comprehensive two-dimensional gas chromatography with non-focusing modulation.
Journal of Chromatography A **2011**, 1218, 3153-3158.
4. Dallüge, J.; Beens, J.; Brinkman, U. A. T.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography: a powerful and versatile analytical tool.
Journal of Chromatography A **2003**, 1000, 69-108.
5. Górecki, T.; Harynuk, J.; Panić, O.,
The evolution of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC).
Journal of Separation Science **2004**, 27, 359-379.
6. Cortes, H. J.; Winniford, B.; Luong, J.; Pursch, M.,
Comprehensive two dimensional gas chromatography review.
Journal of Separation Science **2009**, 32, 883-904.
7. Blumberg, L. M.; David, F.; Klee, M. S.; Sandra, P.,
Comparison of one-dimensional and comprehensive two-dimensional separations by gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2008**, 1188, 2-16.
8. Phillips, J. B.; Liu, Z.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography using an on-column thermal modulator interface.
Journal of Chromatographic Science **1991**, 29, 227-231.

9. Panić, O.; Górecki, T.; McNeish, C.; Goldstein, A. H.; Williams, B. J.; Worton, D. R.,
Development of a new consumable-free thermal modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2011**, 1218, 3070-3079.
10. Kinghorn, R. M.; Marriott, P. J.,
Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography Using a Modulating Cryogenic Trap.
Journal of High Resolution Chromatography **1998**, 21, 620-622.
11. Gaines, R. B.; Frysinger, G. S.,
Temperature requirements for thermal modulation in comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Separation Science **2004**, 27, 380-388.
12. Begnaud, F.; Debonneville, C.; Probst, J.-P.; Chaintreau, A.; Morrison, P. D.; Adcock, J. L.,
Effects of variation in modulator temperature during cryogenic modulation in comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Separation Science **2009**, 32, 3144-3151.
13. Adahchour, M.; Jover, E.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T.,
Twin comprehensive two-dimensional gas chromatographic system: concept and applications.
Journal of Chromatography A **2005**, 1086, 128-134.
14. Adahchour, M.; Beens, J.; Vreuls, R. J. J.; Brinkman, U. A. T.,
Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC).
Trends in Analytical Chemistry **2006**, 25, 438-454.
15. Semard, G.; Gouin, C.; Bourdet, J.; Bord, N.; Livadaris, V.,
Comparative study of differential flow and cryogenic modulators comprehensive two-dimensional gas chromatography systems for the detailed analysis of light cycle oil.
Journal of Chromatography A **2011**, 1218, 3146-3152.
16. Pursch, M.; Sun, K.; Winniford, B.; Cortes, H.; Weber, A.; McCabe, T.; Luong, J.,
Modulation techniques and applications in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC).
Analytical and Bioanalytical Chemistry **2002**, 373, 356-367.

17. Oldridge, N.; Panic, O.; Górecki, T.,
Stop-flow comprehensive two-dimensional gas chromatography with pneumatic switching.
Journal of Separation Science **2008**, 31, 3375-3384.
18. LaClair, R. W.; Bueno, P. A.; Seeley, J. V.,
A systematic analysis of a flow-switching modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Separation Science **2004**, 27, 389-396.
19. Seeley, J. V.; Kramp, F.; Nicka, C. J.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography via differential flow modulation.
Analytical Chemistry **2000**, 72, 4346-4352.
20. Bueno, P. A.; Seeley, J. V.,
Flow-switching device for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2004**, 1027, 3-10.
21. Seeley, J. V.; Micyus, N. J.; Bandurski, S. V.,
Microfluidic deans switch for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Analytical chemistry **2007**, 79, 1840-1847.
22. Cai, H.; Stearns, S. D.,
Partial modulation method via pulsed flow modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Analytical Chemistry **2004**, 76, 6064-6076.
23. Wang, F. C.-Y.,
New valve switching modulator for comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2008**, 1188, 274-280.
24. Poliak, M.; Kochman, M.; Amirav, A.,
Pulsed flow modulation comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2008**, 1186, 189-195.
25. Kochman, M.; Gordin, A.; Alon, T.; Amirav, A.,
Flow modulation comprehensive two-dimensional gas chromatography–mass spectrometry with a supersonic molecular beam.
Journal of Chromatography A **2006**, 1129, 95-104.

26. Blomberg, J.; Schoenmakers, P. J.; Beens, J.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC) and its applicability to the characterization of complex (petrochemical) mixtures.
Journal of High Resolution Chromatography **1997**, 20, 539-544.
27. Nicole, J. M.; McCurry, J. D.; Seeley, J. V.,
Analysis of aromatic compounds in gasoline with flow-switching comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2005**, 1086, 115-121.
28. Wang, H.; Weng, N.; Zhang, S.; Zhu, G.; Chen, J.; Wei, C.,
Identification of petroleum aromatic fraction by comprehensive two-dimensional gas chromatography with time-of-flight mass spectrometry.
Chinese Science Bulletin **2010**, 55, 2039-2045.
29. Frysinger, G. S.; Gaines, R. B.,
Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection (GC×GC/MS) Applied to the Analysis of Petroleum.
Journal of High Resolution Chromatography **1999**, 22, 251-255.
30. Adam, F.; Vendeuvre, C.; Bertoncini, F.; Thiébaud, D.; Espinat, D.; Hennion, M.-C.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography for enhanced analysis of naphthas: New column combination involving permethylated cyclodextrin in the second dimension.
Journal of Chromatography A **2008**, 1178, 171-177.
31. Micys, N. J.; McCurry, J. D.; Seeley, J. V.,
Analysis of aromatic compounds in gasoline with flow-switching comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of Chromatography A* **2005**, 1086, 115-121.
32. Parastar, H.; Radović, J. R.; Jalali-Heravi, M.; Diez, S.; Bayona, J. M.; Tauler, R.,
Resolution and Quantification of Complex Mixtures of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Heavy Fuel Oil Sample by Means of GC × GC-TOFMS Combined to Multivariate Curve Resolution.
Analytical Chemistry **2011**, 83, 9289-9297.
33. Pedrosa, M. P.; de Godoy, L. A. F.; Ferreira, E. C.; Poppi, R. J.; Augusto, F.,
Identification of gasoline adulteration using comprehensive two-dimensional gas chromatography combined to multivariate data processing.
Journal of Chromatography A **2008**, 1201, 176-182.

34. Seeley, J. V.; Bates, C. T.; McCurry, J. D.; Seeley, S. K.,
Stationary phase selection and comprehensive two-dimensional gas chromatographic analysis of trace biodiesel in petroleum-based fuel.
Journal of Chromatography A **2012**, 1226, 103-109.

35. Seeley, J. V.; Libby, E. M.; Seeley, S. K.; McCurry, J. D.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography analysis of high-ethanol containing motor fuels.
Journal of Separation Science **2008**, 31, 3337-3346.

36. Tiyapongpattana, W.; Wilairat, P.; Marriott, P. J.,
Characterization of biodiesel and biodiesel blends using comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Separation Science **2008**, 31, 2640-2649.

37. Wang, G.; Karnes, J.; Bunker, C. E.; Lei Geng, M.,
Two-dimensional correlation coefficient mapping in gas chromatography: Jet fuel classification for environmental analysis.
Journal of Molecular Structure **2006**, 799, 247-252.

38. Vendevre, C.; Ruiz-Guerrero, R.; Bertoncini, F.; Duval, L.; Thiébaud, D.,
Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography for Detailed Characterisation of Petroleum Products.
Oil & Gas Science and Technology - Revue de l'IFP **2007**, 62, 43-55.

39. Wang, F. Ch-Y.; Qian, K.; Green, L. A.,
GC×MS of Diesel: A Two-Dimensional Separation Approach.
Analytical Chemistry **2005**, 77, 2777-2785.

40. Tranchida, P. Q.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L.,
Comprehensive two-dimensional chromatography in food analysis.
Journal of Chromatography A, **2004**, 1054, 3-16.

41. Ryan, D.; Shellie, R.; Tranchida, P.; Casilli, A.; Mondello, L.; Marriott, P.,
Analysis of roasted coffee bean volatiles by using comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry.
Journal of Chromatography A **2004**, 1054, 57-65.

42. Guiochon, G. A.; Beaver, L. A.,
Progress and future of instrumental analytical chemistry applied to the environment.
Analytica Chimica Acta **2004**, 524, 1-14.
43. Mondello, L.; Casilli, A.; Tranchida, P. Q.; Dugo, P.; Dugo, G.,
Detailed analysis and group-type separation of natural fats and oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2003**, 1019, 187-196.
44. Tranchida, P. Q.; Donato, P.; Dugo, G.; Mondello, L.; Dugo, P.,
Comprehensive chromatographic methods for the analysis of lipids
Trends in Analytical Chemistry **2007**, 26, 191-205.
45. Tuzimski, T.,
Multidimensional chromatography in pesticides analysis.
Pesticides - Strategies for Pesticides Analysis **2011**, 155-196.
46. Dimandja, J-M. D.; Stanfill, A. B.; Grainger, J.; Patterson, D. G.,
Application of Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (GC×GC) to the Qualitative Analysis of Essential Oils.
Journal of High Resolution Chromatography **2000**, 23, 208-214.
47. Omar, J.; Alonso, I.; Olivares, M.; Vallejo, A.; Etxebarria, N.,
Optimization of comprehensive two-dimensional gas-chromatography (GC×GC) mass spectrometry for the determination of essential oils.
Talanta **2012**, 88, 145-151.
48. Shellie, R.; Marriott, P.,
Opportunities for ultra-high resolution analysis of essential oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography: a review.
Flavour and Fragrance Journal **2003**, 18, 179-191.
49. Shellie, R.; Marriott, P.; Chaintreau, A.,
Quantitation of suspected allergens in fragrances (Part I): evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography for quality control.
Flavour and Fragrance Journal **2004**, 19, 91-98.
50. Smolková E.; Feltl L.,
Analýza látek v plynném stavu. Praha, SNTL **1991**.

51. Opekar F.; Jelínek I.; Rychlovský P.; Plzák Z.,
Základní analytická chemie. Praha, Nakladatelství Karolinum **2003**.
52. Hoh, E.; Mastovska, K.; Lehotay, S. J.,
Optimization of separation and detection conditions for comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans.
Journal of Chromatography A **2007**, 1145, 210-221.
53. Tranchida, P. Q.; Purcaro, G.; Sciarrone, D.; Dugo, P.; Dugo, G.; Mondello, L.,
Accurate quadrupole MS peak reconstruction in optimized gas-flow comprehensive two-dimensional gas chromatography.
Journal of Separation Science **2010**, 33, 2791-2795.
54. Štulík K. a kol.,
Analytické separační metody. Praha, Nakladatelství Karolinum **2004**.
55. Murphy, R. E.; Schure, M. R.; Foley, J. P.,
Effect of Sampling Rate on Resolution in Comprehensive Two-Dimensional Liquid Chromatography.
Analytical Chemistry **1998**, 70, 1585-1594.
56. Seeley, J. V.; Kramp, F. J.; Sharpe, K. S.,
A dual-secondary column comprehensive two-dimensional gas chromatograph for the analysis of volatile organic compound mixtures.
Journal of Separation Science **2001**, 24, 444-450.
57. Zarzycki, P.K.; Wierzbowska, M.; Lamparczyk, H.,
The influence of temperature on the multiple separation of estrogenic steroids using mobile phases modified with β -cyclodextrin in high-performance liquid chromatography.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis **1997**, 15, 1281-1287.
58. Drouen, A. C. J. H.; Billiet, H. A. H.; Schoenmakers, P. J.; de Galan, L.,
An improved optimization procedure for the selection of mixed mobile phases in reversed phase liquid chromatography.
Chromatographia **1982**, 16, 48-52.

59. Ston, M.,
Optimalizace experimentálních podmínek měření perfluorovaných organických kyselin metodou GC. Bakalářská práce.
Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova v Praze **2010**
60. Grushka, E.,
Chromatographic peak capacity and the factors influencing it.
Analytical Chemistry **1970**, 42, 1142-1147.
61. Blumberg, L. M.; David, F.; Klee, M. S.; Sandra, P.,
Comparison of one-dimensional and comprehensive two-dimensional separations by gas chromatography.
Journal of Chromatography A **2008**, 1188, 2-16.
62. Blumberg, L. M.,
Comprehensive two-dimensional gas chromatography: metrics, potentials, limits.
Journal of Chromatography A **2003**, 985, 29-38.
63. Shen, Y.; Milton L. L.,
General Equation for Peak Capacity in Column Chromatography.
Analytical Chemistry **1998** 70, 3853-3856.